

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1921-1922

N° 106

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

SUR LE

Pouvoir Glycolytique "in vitro" du Sang et des Organes

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

Mention « Pharmacie »

Présentée et soutenue publiquement le Mercredi 12 Juillet 1922

PAR

Jean-Marie-Louis SERVANTIE

Né à Bordeaux (Gironde), le 7 Septembre 1891

Examineurs de la Thèse

MM. CHELLE, professeur, *Président*.

MANDOUL, professeur

LABAT, professeur

MAURIAC, agrégé

} *Juges*

BORDEAUX

IMPRIMERIE R. TAILLEBOURG FILS

80 bis, Cours de l'Argonne.

1922

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1921-1922

N° 106

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

SUR LE

Pouvoir Glycolytique "in vitro" du Sang et des Organes

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

Mention « Pharmacie »

Présentée et soutenue publiquement le Mercredi 12 Juillet 1922

PAR

Jean-Marie-Louis SERVANTIE

Né à Bordeaux (Gironde), le 7 Septembre 1891

Examineurs de la Thèse

{	MM. CHELLE, professeur, <i>Président</i> .	}	<i>Juges</i>
	MANDOUL, professeur		
	LABAT, professeur		
	MAURIAC, agrégé		

BORDEAUX

IMPRIMERIE R. TAILLEBOURG FILS

80 bis, Cours de l'Argonne.

1922



FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

M. SIGALAS. Doyen

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. LANELONGUE, BADAL, JOLYET, PITRES, GUILLAUD.

PROFESSEURS

MM.			MM.
Clinique médicale.....	ARNOZAN.	Zoologie et parasitologie..	MANDOUL.
Clinique chirurgicale.....	CASSAET.	Médecine expérimentale..	FERRÉ.
Pathologie et thérapeu-	CHAVANNAZ.	Clinique ophtalmologique	LAGRANGE.
tiques générales.....	VILLAR.	Clinique chirurgicale, in-	
Clinique d'accouchements.		fantile, orthopédie....	DENUCÉ.
Anatomie pathologique et	CRUCHET.	Clinique gynécologique...	BEGOUIN.
microscopie clinique...	RIVIERE.	Clinique médicale des ma-	
Anatomie.....		ladies des enfants.....	MOUSSOUS.
Anatomie générale et his-	SABRAZÈS.	Chimie biolog et médic...	DENIGES.
tologie.....	PICQUÉ.	Physique pharmaceutique	SIGALAS.
Physiologie.....		Médecine colon. et cliniq.	
Hygiène.....	G. DUBREUIL.	des maladies exotiques.	LE DANTEC.
Médecine légale et déonto-	PACHON.	Clinique des maladies des	
logie.....	AUCHÉ.	voies urinaires.....	POUSSON.
Physique biologique et cli-	VERGER.	Clinique des maladies cuta-	
nique d'électricité médi-		nées et syphilitiques...	W. DUBREUILH.
cale.....	BERGONIÉ.	Clinique des maladies ner-	
Chimie.....	CHELLE.	veuses et mentales....	ABADIE.
Botanique et matière mé-		Clinique d'oto-rhino-laryn-	
dicale.....	BEILLE.	gologie.....	MOURE.
Pharmacie.....	DUPOUY.	Toxicologie et hygiène	BARTHE.
		appliquée.....	

MM. PRINCETEAU, GUYOT, LABAT.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.			MM.
Anatomie et embryologie	N...		LEURET.
Histologie.....	N...	Médecine générale.....	DUPERIÉ.
Physiologie.....	LACOSTE charg.		CREYX.
Anatomie pathologique..	DELAUNAY.	Maladies mentales.....	MICHELEAU.
Parasitologie et sciences	MURATET.	Médecine légale.....	PERRENS.
naturelles.....	B. SIGALAS charg.		LANDE.
Physique biologique et	N...	Chirurgie générale.....	ROCHER.
médicale.....	RÉCHOU.		DUVERGEY.
Chimie biologique et médi-		Obstétrique.....	PAPIN.
cale.....	N...	Ophtalmologie.....	PERY.
Médecine générale.....	PETGES.	Pharmacie.....	FAUGÈRE.
	CARLES (J.).		TEULIERES.
	MAURIAC.		N...

CHARGÉS DE COURS

Cours de clinique dentaire.....		MM. CAVALIÉ.
Cours complémentaire de Thérapeutique et Pharmacologie.....		CARLES.
Cours complémentaire de Médecine opératoire.....		VENOT.
Cours complémentaire d'Accouchements.....		PERY.
Cours complémentaire d'Ophtalmologie.....		CABANNES.
Cours complémentaire de Puériculture.....		ANDERODIAS.
Cours Complémentaire de Climatologie et Hydrologie médicale...		SELLIER.
Cours complémentaire de démonstrations et préparat. pharmac.		LABAT.
Cours complémentaire de chimie.....		RANGIER.
Cours complémentaire de Vénérologie.....		PETGES.
Cours complémentaire de Pathologie interne.....		MAURIAC.
Cours complémentaire d'orthopédie chez l'adulte, pour les acci-		GUYOT.
dentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes...		
Cours complémentaire annexe de prothèse et rééducation profes-		ROCHER.
sionnelle.....		GOURDON.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

Xavier SERVANTIE

DOCTEUR EN MÉDECINE

PHARMACIEN DE 1^{re} CLASSE

ANCIEN PRÉSIDENT ET SECRÉTAIRE-GÉNÉRAL

DE LA SOCIÉTÉ DE PHARMACIE DE BORDEAUX

A MES CHERS DISPARUS

A MA MÈRE

A MA FEMME

MEIS et AMICIS

A mon Beau-Frère RENÉ GUYOT

PHARMACIEN DE 1^{re} CLASSE

LICENCIÉ ES-SCIENCES

PRÉSIDENT DE LA SOCIÉTÉ DE PHARMACIE DE BORDEAUX

A Monsieur le Professeur agrégé E. LEURET

MÉDECIN-CHEF DU SANATORIUM DE FEUILLAS

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

A Monsieur le Professeur BARTHE

PROFESSEUR DE TOXICOLOGIE ET D'HYGIÈNE APPLIQUÉE

PHARMACIEN EN CHEF DES HOSPICES

OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

A Monsieur le Professeur agrégé P. MAURIAC

MÉDECIN DES HOPITAUX

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

CROIX DE GUERRE

A mon Président de Thèse :

MONSIEUR LE DOCTEUR CHELLE

PROFESSEUR DE CHIMIE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

Recherches Expérimentales

Sur le Pouvoir Glycolytique " in vitro "

du Sang et des Organes

AVANT-PROPOS

Nous ne saurions commencer ce travail sans apporter notre hommage de reconnaissance à Monsieur le professeur agrégé P. Mauriac, chef du laboratoire des Services Hospitaliers de l'Hôpital Saint-André de Bordeaux. Les résultats expérimentaux que nous exposons, lui sont redevables en partie, non seulement de l'idée, mais encore de l'exécution. Ils sont la continuation d'une même conception dont les premières données parurent, en collaboration avec M. L. Chelle, en 1914, et qui ne put être reprise qu'en 1921. Ce n'est pas le simple témoignage que nous plaçons ici qui peut dire tout ce que nous devons à Monsieur P. Mauriac ; qu'il veuille bien y trouver pourtant le témoignage de notre entier et bien sincère dévouement.

Poursuivant l'étude du glucose sanguin et de l'hémoglycolyse, M. P. Mauriac rechercha si cette dernière variait suivant une loi dont la constatation aurait une valeur clinique. Avec lui nous avons expérimenté sur le pouvoir glycolytique « in vitro » du sang, des organes et extraits d'organes. Nous avons exposé les résultats obtenus, presque dans l'ordre chronologique, en passant du sang aux organes et de ceux-ci aux extraits d'organes.

Nous avons réuni en chapitres spéciaux les constatations et les expériences d'ordre chimique que nous avons été amené à faire au cours de ces expériences.

Nous remercions les internes et la Sœur du laboratoire de l'aide qu'ils nous ont apporté. Au terme de nos études pharmaceutiques, il nous est donné de dire à Monsieur le Professeur Barthe, dont nous avons été le préparateur et l'interne, toute la reconnaissance que nous lui devons pour le cordial accueil qu'il nous a toujours réservé.

A Monsieur le Professeur Chelle qui a bien voulu accepter la présidence de cette thèse, et nous a guidé par ses conseils, nous adressons nos respectueux remerciements.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE I

GLYCÉMIE ET GLYCOLYSE

Depuis 1775 où Dobson et Pool, médecin et pharmacien anglais, après avoir extrait quelques onces de substance sucrée de l'urine d'un diabétique, décélèrent le sucre du sang en constatant que le sérum du malade avait la même saveur, les travaux sur l'étude du sucre sanguin ou « glycémie » forment un ensemble monumental que nous résumerons en quelques lignes pour servir d'introduction à nos recherches.

Le sucre du sang peut être considéré comme constitué seulement par du glucose ; d'autres hydrates de carbone tels que le maltose, le lévulose pourraient exister aussi mais leur présence est négligée en pratique. Le glucose existe dans le sang, sous deux formés : le sucre libre et le sucre combiné. Le sucre libre est directement décelable dans le sérum privé d'albumines : en traitant du sang par une solution de métaphosphate de soude et l'acide chlorhydrique, le filtrat donne une réduction de la liqueur de Fehling. Ce sucre entièrement libre est en quantité variable suivant les conditions physiologiques de l'individu examiné : espèce, âge, température, etc... Le sucre du sang ou sucre réel, serait, d'après Lépine, augmenté par l'action de diastases, agissant avec une grande rapidité sur certaines substances (disaccharides, glucosides) existant dans le milieu sanguin : ce sucre particulier, intermédiaire entre le sucre libre et le sucre combiné, fut nommé « sucre virtuel ». Son existence a été nette-

ment contestée par d'autres expérimentateurs (Bierry, Randoin-Fandard, Ranc) qui n'admettent qu'une seule combinaison du glucose avec les protéiques du plasma, le sucre protéidique. Ce dernier, dont la quantité atteint et quelquefois dépasse celle du sucre libre, n'est pas touché par la glycolyse, et pour le mettre en évidence on doit le séparer de sa combinaison organique par l'action énergique des acides à l'autoclave.

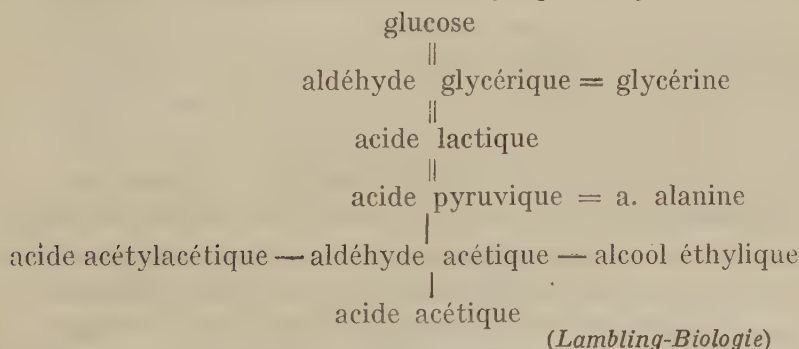
Le glucose est fourni au sang par la digestion des hydrates de carbone contenus dans la ration alimentaire, et surtout par la transformation du glycogène hépatique. Le sang transporte aux tissus le glucose fourni par le foie, organe régulateur, et ceux-ci l'utilisent ou le transforment à leur tour en glycogène de réserve. C'est par l'amylase que le glycogène est transformé en glucose : le mécanisme de l'acte réversible est ignoré.

Les hydrates de carbone existant ainsi dans l'organisme servent d'aliments aux tissus ainsi qu'au travail musculaire et représentent plus de 60 p. 100 de la valeur énergétique de la ration. La combustion du glucose débute par un doublement en deux molécules d'acide lactique (A. Slosse, B. Kraske, K. Kondo, L. Chelle et M. Mauriac). Ce doublement en acide lactique a pu être démontré, soit par la circulation artificielle à travers un organe isolé, le foie par exemple, l'acide lactique formé étant en rapport direct avec la quantité de glycogène existant dans le foie ou la quantité de glucose apportée par le sang circulant ; soit par le dosage de cet acide, en utilisant le phénomène de l'hémoglycolyse « *in vitro* ». En étudiant la glycémie chez l'homme à l'état normal et à l'état pathologique, MM. Chelle et P. Mauriac ont vérifié que si dans un même sang, la quantité de glucose diminuait en fonction du temps écoulé depuis la prise, on pouvait récupérer cette perte en glucose en faisant un dosage de l'acide lactique formé. Les chiffres qu'ils ont obtenu montrent la valeur de la méthode au point de vue pratique et confirment les travaux de Kraske avançant que l'acide

formé dans l'hémoglycolyse compensait la perte de glucose à un dixième près.

Pour expliquer la combustion du glucose dans l'organisme, on peut diviser les théories en deux classes : la fermentation aérobie et la fermentation anaérobie. Stoklasa aurait extrait des tissus animaux comme des suc végétaux par l'alcool éthéré, des zymases qui reproduiraient la fermentation alcoolique et démoliraient le sucre par l'étape de l'alcool et de l'acide carbonique, en fermentation anaérobie. Ces résultats ont été fortement controversés et la question demeure ouverte.

L'hémoglycolyse semble être une fermentation aérobie car le vide, une couche d'huile de paraffine sur le milieu, un excès de CO_2 , arrêtent la glycolyse (R. Lépine) qui reprend dès qu'on a introduit de l'oxygène. Il se produirait tout d'abord un dédoublement d'une molécule de glucose en deux molécules d'acide lactique. Celui ci a été nettement reconnu et c'est le seul bien établi parmi les produits de décomposition du glucose. Comme pour toute dégradation faite par l'organisme, il existe un grand nombre d'étapes intermédiaires saisies ou soupçonnées qui font que, comme toute dégradation, celle-ci est progressive. Nous donnerons en un schéma les divers termes décelés jusqu'à ce jour.



Les doubles traits indiquent que ces diverses réactions sont reversibles dans l'organisme, c'est-à-dire peuvent se faire par reconstruction synthétique. En circulation artificielle dans le foie, l'alanine et l'acide pyruvique fournissent de l'acide

lactique, tout comme la glycérine qui, chez le diabétique est productrice de sucre et en circulation artificielle fournit aussi de l'acide lactique.

Dans l'organisme en fonctionnement, le glucose est détruit par un processus, auquel Lépine a donné le nom de Glycolyse. Quels sont les agents producteurs de la glycolyse ? Lépine et Barral en 1890 montrèrent les premiers qu'un sérum ne perd pas de sucre, s'il est complètement privé d'éléments figurés.

Cette notion du rôle essentiel des éléments figurés est indéniable, mais où la discussion commence c'est dans l'appréciation du pouvoir glycolytique des divers constituants sanguins.

Lépine et Boulud, dès 1906, constatèrent qu'après centrifugation d'un sang défibriné, et répartition inégale des globules rouges et blancs dans le sérum, la glycolyse était plus énergique dans le mélange le plus riche en globules blancs. Levene et Meyer ont prouvé aussi que les leucocytes transformaient le glucose en acide lactique droit, c'est-à-dire produisaient une glycolyse vraie en opposition avec la fausse glycolyse qui consisterait d'après Lépine en formation de sucre combiné aux dépens du sucre libre.

Rona et Arnheim, d'expériences qui peuvent être critiquées par suite des altérations apportées aux globules sanguins, ont conclu que les hématies auraient le même pouvoir glycolytique que les leucocytes. Loeb allant encore plus loin, prétend que seuls les globules rouges ont le pouvoir glycolytique : Les expériences de Lépine et Levene et Meyer sont en opposition formelle avec les siennes, sur ce point. M. Chelle et Mauriac ont étendu la question en différenciant à leur tour les divers genres de leucocytes. Les sérosités à lymphocytes auraient un pouvoir glycolytique à peine existant, tandis que les leucocytes polynucléés transforment rapidement le glucose en acide lactique. La démonstration la plus nette est fournie par les épanchements pleuraux, les pus d'abcès et les liquides céphalorachidiens. Dans ces derniers d'ailleurs, il est de pratique courante pour distinguer les diverses méningites de faire le dosage du sucre. Un liquide à sucre normal malgré une forte

réaction leucocytaire est un liquide à lymphocytes. Dès que le sucre est diminué, on constate toujours la présence de polynucléaires. Une classe à part doit être faite pour les leucémies myéloïdes ; dans cette affection, où les globules blancs peuvent atteindre le chiffre de 6 à 800.000 par millimètre cube de sang, et où on voit apparaître des formes particulières, les myélocytes, le pouvoir glycolytique du sang présente une intensité remarquable.

Il en est de même pour les sérosités, telles que le liquide pleural, qui sont alors très riches en éléments cytologiques parmi lesquels abondent les myélocytes, leucocytes d'origine médullaire. L'intérêt de ces remarques ne saurait échapper et Lépine avec raison en fait ressortir la valeur.

Après avoir obtenu une valeur comparative de l'influence des divers éléments du sang sur la glycolyse, M. P. Mauriac a voulu expérimenter si, dans les variations du pouvoir glycolytique sanguin, on n'aurait pas un mode d'exploration intéressant dans certains cas pathologiques.

Déjà Lépine s'est attaqué au problème de la destruction diastasique du glucose en étudiant les variations de la glycolyse hématique. Ces travaux qui représentent près de trente années de recherches ont été à peu près tous faits sur le chien. Ils démontrèrent que nombreux sont les agents qui peuvent faire varier dans des proportions très grandes, le pouvoir glycolytique du sang de l'animal traité : action dominante du pancréas, injection de phloridzine, asphyxie, hémorragies, température, etc.

Au point de vue pathologique, Lépine a constaté que le pouvoir glycolytique défini par lui « la perte pour 100 de sucre que le sang subit s'il est maintenu une heure au B. M. à 38°-39° » peut varier de 25 à l'état normal, à 2 dans un cas de diabète sucré, et à 35 dans une pneumonie.

L'étude du pouvoir glycolytique sanguin pouvait donc avoir une importance dans les divers états normaux, surtout le diabète, comme le faisaient supposer les résultats de Lépine.

CHAPITRE II

L'INDICE GLYCOLYTIQUE

Définition — M. P. Mauriac, dans une communication à la Société de Biologie de Bordeaux, fait remarquer que pour l'étude de la glycolyse, comme pour celle de la glycémie ou toute autre épreuve biologique, les examens en série sont indispensables et ont seuls une valeur. Il fallait donc une méthode permettant d'agir sur une très minime quantité de sang, en provoquant cependant d'assez fortes différences, pour que les causes d'erreur possibles dans les micro-méthodes ne viennent à chaque instant entacher les résultats de doute. Le ferment glycolytique sanguin n'est pas insensible aux quantités de glucose en présence desquelles il se trouve. Si la perte du sucre n'est pas rigoureusement proportionnelle à la richesse en sucre, elle suit cependant une courbe ascendante pour des additions faibles mais descendante pour de fortes concentrations. Cette influence de la concentration en glucose cadre d'ailleurs mal avec la notion de l'énergie d'un ferment par rapport aux quantités de matières à transformer, et Duclaux restait-il perplexe pour admettre cette propriété. En augmentant ainsi la quantité de glucose à transformer pour une même quantité de sang, on obtient comme un système renforceur permettant d'inscrire des variations beaucoup plus accusées.

La technique proposée par M. P. Mauriac avait donc pour

objectifs essentiels : faible prise de sang, forte augmentation de la glycolyse.

Le dosage exact du pouvoir glycolytique sanguin comme l'entendait Lépine, ne permet guère l'emploi de microméthodes, sans s'exposer à une méthode trop difficile pour en permettre son usage en clinique. D'un autre côté, le transport du sang dans un milieu artificiel n'autorise plus à considérer les chiffres obtenus comme représentant ceux que l'on obtiendrait *in vivo*.

La différence constatée entre deux dosages faits sur deux mélanges de glucose et de sang, où la glycolyse aura agi pour l'un, où elle aura été arrêtée pour l'autre, ne donnera pas un chiffre absolu mais permettra d'établir un rapport.

Ce rapport, par sa facilité de technique et la faible quantité d'essai qu'il nécessite, pourra donner un mode d'exploration nouveau : c'est ce que P. Mauriac a appelé « l'indice glycolytique ». Il sera représenté par

$$I. G. = \frac{\text{tube à glycolyse arrêtée}}{\text{tube à glycolyse active.}}$$

Technique de détermination de l'indice glycolytique

Pour cette technique nous avons à envisager le sang à prélever, les solutions et le matériel nécessaire.

Matériel nécessaire. Le matériel a été réduit au strict minimum : Les solutions glucosées sont dosées à l'aide de pipettes graduées stériles dans des tubes à essais bouchés et stérilisés : Pour prélever le sang, on gradue un compte-gouttes normal, à l'aide d'une lime, avec deux traits, l'un à 0cc,25, l'autre à 0cc,50. Ce compte-gouttes doit être stérilisé ou au moins flambé avant usage. Au compte-goutte est adapté un petit tuyau de caoutchouc terminé par un embout de verre pour permettre l'aspiration. Des vaccinostyles stérilisés serviront à faire les piqûres.

Le sang est pris par piqûre au lobule de l'oreille : l'afflux de sang doit être suffisant pour ne pas avoir à presser sur l'oreille et provoquer le mélange du sang avec la lymphe. La piqûre peut aussi se faire aux doigts mais elle est sûrement plus douloureuse.

Pour empêcher le sang de se coaguler, il fallait une solution anti-coagulante. Celle qui fut choisie fut une solution de citrate de soude à 1 gr. p. 100 facile à préparer, à stériliser et qui n'est pas hémolytique.

Les solutions expérimentales furent au nombre de deux contenant la même quantité de glucose mais l'une par addition de phosphate de soude et de chlorure de sodium laissait la glycolyse se produire, tandis que l'autre très hypotonique arrêtait tout pouvoir glycolytique.

Solution isotonique :

Phosphate disodique ...	2
(Sel de Sorensen)	
Chlorure de sodium	4
Glucose pur	2
Eau distillée	1000

Solution hypotonique :

Glucose	2
Eau distillée	1000

Cette solution isotonique est peut-être un peu faible de titre aussi proposerions-nous de mettre 6 gr. de chlorure de sodium au lieu de 4 gr. : nos expériences ultérieures sur la concentration des solutions nous en ont montré l'intérêt.

L'addition de phosphate de soude est nécessaire car en présence de chlorure de sodium pur la glycolyse s'effectue très mal.

Le liquide hypotonique a pour but de détruire le pouvoir glycolytique du sang ajouté et de donner le point de départ, glucose plus sang, qui permettra de conclure à la glycolyse dans le tube isotonique. L'eau distillée arrête toute glycolyse, non parce que l'hémolyse a détruit les globules sanguins, mais par le manque de concentration moléculaire nécessaire

à l'action diastasique (Lépine, Rona et Doblin, Rona et Arnheim).

Pour éviter d'avoir deux solutions dont le titre peut ne pas correspondre après le passage à l'autoclave, on pourrait pour des expériences ultérieures, utiliser la solution isotonique dans les deux tubes et arrêter la glycolyse dans le tube témoin par un des moyens que nous étudierons au chapitre IV. Les objections, faites à l'addition de sels dans une solution et pas dans l'autre, seraient ainsi évitées.

A l'aide du compte-gouttes gradué et contenant déjà 0cc,25 de liquide citraté on prélève du sang obtenu par piqure jusqu'au trait 0cc,5, ce qui donne 1/4 de centimètre cube de sang. Le brassage du mélange se fait facilement par les bulles d'air aspiré. On fait aussitôt la répartition entre deux cubes contenant l'un, un centimètre cube de solution hypotonique, l'autre, un centimètre cube de solution isotonique. En mettant dans chacun le même nombre de gouttes normales de sang à 50 % de solution citratée, on a introduit la même quantité de sang. Le matériel est stérilisé et les manipulations doivent être faites très proprement pour éviter les causes d'erreur microbiennes.

Les tubes sont mis à l'étuve à 37° pendant 6 heures et laissés à la température ordinaire ou à la glacière jusqu'au lendemain, soit de 12 à 16 heures. Aux tubes en expérience sont joints deux tubes contenant 1cc des solutions hypotonique et isotonique pour que l'action glycolytique possible des sels en solution et de la réaction du milieu s'exerce sur les liqueurs types pures comme avec addition de sang ; il en est de même de la concentration qui pourrait être occasionnée par l'évaporation.

Nous avons donc le tableau suivant :

Tubes	Solution isotonique	Solution hypotonique	Sang citraté à 50 p. 100
1	1cc		0cc 25
2		1cc	0cc 25
3	1cc		
4		1cc	

Le lendemain le dosage du sucre existant est fait dans chaque tube par prélèvement d'un centimètre cube dans les tubes 1 et 2, directement dans les tubes 3 et 4.

Comme méthode de dosage, la microméthode choisie fut celle de Folin réglementée par Borde. Nous avons vérifié cette méthode à de nombreuses reprises et nous ne pouvons qu'être très satisfait des résultats obtenus. Comme toute microméthode, elle peut parfois, mais très rarement, provoquer des réactions anormales ou qui nous semblaient telles, mais il en est ainsi avec toutes. Pour déféquer nous avons utilisé le plus souvent le tungstate de soude ; nous avons aussi utilisé le métaphosphate de soude avec des résultats exactement concordants. La différence trouvée entre le tube 2 et le tube 4 pourrait permettre de calculer la glycémie, mais nous ferons remarquer que nous opérons sur 0cc 125 de sang pur, ce qui nous semble une quantité faible pour qu'elle soit vraiment démonstrative.

L'indice glycolytique à l'état normal

De nombreuses recherches ont été faites tout d'abord sur l'homme normal pour établir un chiffre moyen d'indice glycolytique. Les écarts observés chez le même individu n'offrent pas une grande amplitude.

Chez 19 hommes normaux, les variations notées vont de 1,10 à 1,60 chiffres extrêmes, la moyenne fut de 1,35.

Sur le même individu, dix dosages ont été effectués à la même heure du jour et dans les mêmes conditions de travail et de nourriture.

M.... — 1,28 — 1,23 — 1,30 — 1,20 — 1,19 — 1,50 — 1,51 — 1,20 — 1,25.

L'influence du jeûne et de la digestion ne nous a pas semblé évidente.

Après l'établissement d'une moyenne normale, il y avait

intérêt à rechercher si la fixité relative que nous avons constatée se retrouvait dans les cas pathologiques.

L'Indice Glycolytique à l'état pathologique

Dans la tuberculose pulmonaire, si les indices obtenus sont peu élevés chez certains malades, chez d'autres ils sont nettement au-dessus de la moyenne normale.

Chiffres obtenus :

1,16 — 1,56 — 1,40 — 1,39 — 1,36 — 1,80, — 1,11 — 1,35 — 1,13 — 1,05 — 1,08. — L'indice moyen, (onze cas) = 1,33.

C'est dans la tuberculose que furent obtenus les indices les plus faibles. Une remarque aussi fut faite : la glycémie semble nettement plus faible chez les malades qui maigrissent et ont une température élevée que chez ceux dont l'état général se maintient bon.

L'indice glycolytique a été déterminé 8 fois chez des diabétiques.

Indices obtenus :

1,04 — 1,53 — 1,60 — 1,42 — 1,60 — 1,17 — 1,17 — 1,37.

Indice moyen (8 cas) = 1,36.

Chez tous les diabétiques examinés, l'hyperglycémie était constante et oscillait entre 2 et 5 grammes par litre.

Dans les néphrites chroniques, l'indice glycolytique est généralement élevé.

Indices obtenus :

1,68 — 1,65 — 1,62 — 1,16 — 1,25 — 1,35 — 1,76 — 1,52 — 1,49 Indice moyen (9 cas) = 1,49.

Nous signalerons à part 2 cas d'urémie avec dosage d'urée dans le sang :

Urée dans le sang = 5 gr. 00 par litre Indice = 1,13

Urée dans le sang = 0 gr. 75 par litre Indice = 1,12

La glycémie fut, dans les néphrites, sensiblement au-dessus de la normale et s'il est vrai qu'un fort chiffre d'urée coïn-

cide généralement avec l'hyperglycémie, ce n'est pas une loi générale et nous avons observé un homme qui, avec une azotémie de 4 gr. 50 n'avait que 0 gr. 60 de glucose par litre de sang.

Dans les affections du foie, les indices obtenus ne donnent pas d'indications nettes.

Cirrheses atrophiques : 1,49 — 1,09 — 1,19 — 1,50 — 1,46

Cirrheses hypertrophiques : 1,34 — 1,22 — 1,29 — 1,67

Cancers du foie : 1,50 — 1,14.

Indice moyen (11 cas) = 1,44.

La glycémie fut toujours élevée, aux environs de 1 gr. 50.

C'est dans les leucémies myéloïdes que fut notée l'augmentation la plus nette de l'indice glycolytique sanguin. Nous avons pu observer 3 cas de leucémie myéloïde où l'augmentation des leucocytes variait entre 250.000 et 800.000 globules blancs.

Chiffres obtenus = 2,50 — 2,13 — 2,18 — 1,20.

Ce dernier indice, si divergent, fut obtenu chez un malade qui joignait à la leucémie une cachexie et une anémie profondes.

La recherche de l'indice glycolytique n'a pu être faite que dans un seul cas de leucémie lymphoïde, où la proportion des leucocytes de la série lymphocytaire dépassait 90 %.

Indice obtenu = 1,02.

Le sang contenait, cependant, plus de 200.000 leucocytes par millimètre cube.

Dans tous les cas de leucémie myéloïde, il y eut une diminution très nette de la glycémie.

Peut-être pourrait-on expliquer l'augmentation du pouvoir glycolytique du sang dans les leucémies myéloïdes, par l'abondance des globules blancs de la série myéloïde, dont le pouvoir glycolytique est intense (Chelle et P. Mauriac).

Recherches Expérimentales sur le Lapin

Après avoir ainsi constaté que le pouvoir glycolytique ne variait guère à l'état normal, et à l'état pathologique chez l'homme, nous avons recherché si l'on pourrait expérimentalement provoquer des variations du pouvoir glycolytique en modifiant la formule sanguine.

Nous avons expérimenté sur le lapin.

Les chiffres obtenus ont montré une grande fixité de l'indice glycolytique à l'état normal sur les trois lapins en expérience.

N° 1 — (Charlot) 1,33 — 1,17 — 1,26 — 1,25 — 1,10

N° 2 — (Escobar) 1,02 — 1,18 — 1,01 — 1,14 — 1,15 — 1,18.

N° 3 — (Christophe) 1,13 — 1,19 — 1,13

Dans le but de provoquer leucocytose et polynucléose pour modifier le pouvoir glycolytique du sang, nous avons pratiqué chez le lapin des injections intraveineuses d'électrargol.

Voici le résultat de quelques expériences :

Lapin N° 1 :

Heures	Leucocytose	Polynucléose	Indice glycolytique
9 h.	5.100	52	1.18
9 h. 10	Injection intraveineuse de 0 cc. 5 d'électrargol.		
9 h. 40	5.600	39	
10 h. 10	9.100	67	
10 h. 40	8.500	89	1.25
11 h. 10	9.200	84	
11 h. 40	6.800	82	

La quantité d'électrargol fut insuffisante car s'il y eut inversion de la formule leucocytaire, en forte polynucléose, nous n'avons pas obtenu la leucocytose recherchée.

Lapin N° 2 :

Heures	Leucocytose	Polynucleose	Indice glycolytique
8 h.	5.700	44	1.15
8 h. 30	Injection intraveineuse de 1 cc. d'électrargol.		
9 h. 30	7.000	49	
10 h. 45	21.000	82	1.26
14 h. 30	7.200		

Malgré les résultats obtenus d'hyperleucocytose et de polynucléose, nous ne pouvons considérer l'augmentation de l'indice glycolytique comme démonstrative.

Lapin N° 3 :

Heures	Leucocytose	Polynucleose	Indice glycolytique
8 h.	5.500	55	1.13
8 h. 30	Injection intraveineuse de 1 cc. d'électrargol.		
9 h. 30	9.500	88	1.24
11 h.	4.500		

Cette expérience prend son intérêt en ce que nous opérons sur une femelle à terme, qui eût des petits en parfait état, le surlendemain. Si nous avons obtenu une polynucléose, l'hyperleucocytose fut très faible, et pourrait s'expliquer par la résistance des femelles pleines au choc colloïdoclasique.

Les injections intra-musculaires ne provoquèrent ni variation du pouvoir glycolytique, ni même modifications importantes de la formule sanguine.

Nous ferons remarquer que, chez 19 malades, pour lesquels nous notions la formule sanguine, en même temps qu'était recherché l'indice glycolytique, nous n'avons observé aucune relation entre ce pouvoir et la polynucléose.

En étudiant l'action de l'ingestion de 60 grammes de glucose à jeun, chez l'homme normal et chez le diabétique, au point de vue des modifications apportées à la formule sanguine, nous avons constaté que le pouvoir glycolytique n'était pas modifié, malgré l'exagération de l'hyperglycémie chez les diabétiques.

La glycolyse *in vitro* donnant toujours de l'acide lactique, nous nous sommes demandés si la présence de cet acide ne limitait pas la réaction. Nous avons constaté qu'en présence de carbonate de chaux, le pouvoir glycolytique n'était pas augmenté, mais semblait au contraire diminué.

Méthode de M. Ljundhal pour la détermination du pouvoir glycolytique sanguin

Nous ne pouvons terminer l'énumération des recherches faites sur l'indice glycolytique sanguin par la méthode de M. P. Mauriac, sans signaler la méthode décrite récemment par Monsieur Ljundahl, dans les Comptes-rendus de la Société de Biologie.

M. Ljundahl, utilise, pour recueillir le sang prélevé au lobe de l'oreille, des ampoules faites en verre étiré et préparées de telle sorte qu'elles se remplissent d'elles-mêmes au contact du sang et que celui-ci ne puisse s'écouler naturellement. Pour éviter la coagulation, après avoir éliminé les oxalates et les citrates, l'auteur, à défaut d'hirudine difficile à se procurer, emploie le sulfate de magnésium en solution chaude saturée.

Les ampoules sont remplies avec cette solution, puis vidées et desséchées par un rapide courant d'air chaud ; les cristaux de sulfate restant sur la paroi empêchent la coagulation. Pour chaque opération, on emploie 4 ampoules remplies simultanément et pesées avant leur usage à la balance de Coulomb. Après remplissage, par une nouvelle pesée, on détermine la quantité de sang contenue dans chaque ampoule. Le dosage du glucose sanguin se fait par la méthode de Bang.

On détermine immédiatement la quantité de sucre contenue dans 2 des tubes et les 2 autres sont portés dans un thermostat à 37°, en garnissant le vase qui les renferme avec un papier buvard humide pour empêcher la dessiccation du sang

aux extrémités des tubes. Au bout de 4 heures, on effectue le dosage du glucose contenu dans les tubes portés au thermostat.

Chaque tube contient de 100 à 150 milligrammes de sang, c'est-à-dire 0 milligramme, 10 à 0 milligrammes, 20 de glucose pour un sang normal. La glycolyse se produit rapidement et, en 4 heures, les valeurs tombent de 0,10 à des quantités de 0,02 à 0,04. En opérant par la méthode de Bang, le sulfate de magnésium agit de telle manière qu'il réduit la valeur du sucre, de 0, 01 à 0,02. Cette valeur est la même pour tous les sangs et peut donc être considérée ici comme négligeable.

Après avoir donné les éléments de sa méthode, M. Ljun-dahl ajoute les considérations suivantes :

« En réalité, nous ne savons pas en toute certitude si la diminution du pouvoir réducteur du sang, qui se produit pendant le séjour du sang dans le thermostat, tient exclusivement à une glycolyse, par conséquent à une destruction des molécules de sucre. En outre, nous ne savons pas quelle quantité de la substance réductrice constitue le sucre, et nous ne pouvons pas considérer non plus comme établi si le glucose se présente ou non en liberté dans la solution. Il est donc évident que les résultats obtenus dans la méthode de Mauriac par l'adjonction de sang à une solution de sucre, ne peuvent pas être considérés comme nous donnant une mesure de la destruction du sucre du sang.

Et, de même, avec ma méthode, on peut supposer que le sel qu'on emploie pour empêcher la coagulation, a une action sur le processus. Aucune de ces deux méthodes ne peut donc, pas plus que les autres méthodes employées précédemment, avoir la prétention d'exprimer ce qui se passe dans le sang même. Mais, justement pour cela, et parce qu'en outre elles sont fondées sur des principes très différents, je pense que ces deux méthodes sont destinées à se compléter l'une l'autre. »

Après les recherches de Levene et Meyer, Slosse, Kraske,

Chelle et Mauriac, citées plus haut, il paraît établi, que la production d'acide lactique correspondant à une perte de glucose sanguin, en dehors de la glycolyse alcaline, est bien due à un ferment glycolytique existant dans le sang. Mais nous nous associerons pleinement aux conclusions de M. Ljundahl et la détermination de l'indice glycolytique relève des mêmes objections. Ce ne sont pas des chiffres absolus mais seulement un terme de comparaison que l'on peut obtenir.

C'est en se plaçant autant que possible dans les mêmes conditions d'expérience, par des dosages en série, que M. P. Mauriac par l'indice glycolytique a recherché un mode d'exploration du pouvoir glycolytique sanguin, la détermination absolue de la glycolyse sanguine paraissant entourée de trop grosses difficultés expérimentales.

Au point de vue pratique, il nous paraît que la détermination de l'indice glycolytique, peut-être en la modifiant pour la rendre plus sensible, offre au chercheur de moindres difficultés opératoires, en évitant des pesées d'un ordre tel que la moindre erreur est multipliée de suite par un énorme coefficient.

La méthode de M. Ljundahl présente un grand avantage par contre : en évitant toute adjonction de sels autres que le sulfate de magnésium, il évite l'apport de facteurs importants dans la glycolyse *in vitro* et dont plusieurs seront étudiés ultérieurement. Nous ne pouvons que conclure comme lui à l'association pour une même recherche de deux méthodes dont l'une s'attache au travail du ferment glycolytique dans le sang même et dont l'autre, essaie par une exaltation de ses effets, à connaître la valeur.

Conclusions. — Après avoir ainsi établi les résultats expérimentaux obtenus, il nous paraît intéressant de citer des extraits de la conclusion du rapport de MM. Ambard et Chabanier au Congrès de Médecine de Strasbourg. Octobre 1921

« La recherche de l'activité glycolytique des tissus était à

priori de toutes les tentatives que pouvait suggérer l'étude du diabète, parmi les moins téméraires et les plus modestes. Etant acquis que l'organisme présente « *in toto* » une diminution de son activité glycolytique, on devait s'attendre à retrouver ce même déficit en étudiant l'organisme « *in partibus* ». Autrement dit, on devait voir en détail ce qu'on avait vu en gros.

« On ne pouvait nourrir l'espoir que des résultats positifs laborieusement acquis, nous apprissent rien de nouveau. Mais il y avait certainement dans l'esprit des chercheurs, le désir caché d'apporter aux mécréants du trouble basal, la preuve matérielle de leur erreur. Un mauvais génie a toujours jeté un sort sur les recherches tentées *in vitro* sur l'activité glycolytique.

« Pour les recherches de Lépine, faisons d'abord cette simple remarque. De tous les tissus du corps soigneusement examinés au point de vue de leur teneur en glycogène, seuls les leucocytes présentent une singulière anomalie.

« Chez le diabétique tous les tissus sont très appauvris en glycogène, seuls les leucocytes en gardent leur part habituelle. Si l'on se rappelle que l'azoamylie suit le diabète comme l'ombre suit le corps, on devait donc se dire que si dans un diabétique tout est diabétique, les leucocytes cependant devaient faire exception. On avait certes le droit, comme l'a fait Lépine, d'étudier la glycolyse dans le sang, mais en cas d'échec ou de résistance, il était indiqué de chercher ailleurs, la richesse des leucocytes en glycogène nous en faisait l'invitation expresse. Et pourtant Lépine commença par l'étude du sang et mit jusqu'à la fin tous ses espoirs dans le sang. Il crut, il est vrai, trouver ce qu'il cherchait, d'autres le crurent avec lui, mais ce ne fut qu'une minorité parmi les auteurs. Aujourd'hui on ne croit plus à la diminution de l'activité glycolytique, non pas que la question ait été formellement résolue par la négative, mais un peu par lassitude de voir toujours surgir des mémoires qui se contredisent à égalité de voix. »

Les recherches précédentes sur l'indice glycolytique étaient déjà faites quand furent publiées ces phrases, un peu déçues sinon décevantes, de MM. Ambard et Chabanier. Nous ne pouvons pas dire que ce que nous apportons à l'édifice du pouvoir glycolytique sanguin fasse changer quoique ce soit de cette opinion.

Dans l'étude du pouvoir glycolytique sanguin nous n'avons constaté que des variations peu marquées et sans loi générale commandant ces variations. Aussi, avec M. P. Mauriac, avons-nous abandonné le sang pour chercher dans les divers organes une étude comparative du pouvoir glycolytique.

Des expériences faites sur l'indice glycolytique, que pouvons-nous conclure ?

Chez l'homme normal le pouvoir glycolytique du sang, déterminé par l'indice glycolytique, varie dans des limites peu importantes.

Dans les états pathologiques, y compris le diabète, mais à l'exception des leucémies myéloïdes, les variations de l'indice glycolytique sont peu marquées et on ne peut préciser une loi générale commandant ces variations.

L'hyperleucocytose et la polymucléose, provoquées chez le lapin par une injection intraveineuse d'argent colloïdal, constatées chez l'homme dans les états pathologiques, ne semblent pas influencer d'une façon notable et régulière sur le pouvoir glycolytique.

CHAPITRE III

LE POUVOIR GLYCOLYTIQUE COMPARÉ DES ORGANES ET DES TISSUS, DE LEURS EXTRAITS ET DE LEURS POUDRES

De nombreuses expériences ont déjà été faites sur le pouvoir glycolytique des tissus et le ferment glycolytique peut être considéré comme produit par tous les protoplasmas.

Lépine reconnaît d'ailleurs l'intérêt qu'il y aurait à comparer la glycolyse produite, sur une solution de glucose par le sang avec celle produite par des sucs, des extraits ou des pulpes d'organes. C'est cette comparaison « *in vitro* » que M. P. Mauriac et nous avons essayé d'établir.

Lauder Brunton a signalé en 1898 le pouvoir glycolytique des muscles, confirmé depuis par O. Cohnheim, MacGuigan et Hess, ainsi que Forschbach et d'autres. Arnheim et Rosenbaum, Feinschmidt, en opérant sur les sucs de pancréas, de foie et de muscles en présence de fluorure de sodium ou de chloroforme ont constaté une glycolyse nette, soit pour Arnheim et Rosenbaum les chiffres suivants :

Perte de Sucre

Avec la poudre de muscles	10
Avec la poudre de foie	27
Avec la poudre de pancréas	36

Levene et Meyer avec la pulpe d'organes et notamment avec la pulpe de reins ont constaté en présence de glucose une production d'acide lactique ; c'est donc une vraie glycolyse.

Les tissus contiennent donc un ferment glycolytique ; mais dans les conditions dans lesquelles se sont placés les auteurs précédents, la glycolyse est faible ou les sucres n'ont pas la puissance fonctionnelle des tissus vivants ; les antiseptiques employés retardent ou empêchent la glycolyse. Lépine n'attache pas d'importance aux résultats obtenus.

Pour ne pas utiliser d'antiseptiques, nous nous sommes toujours placés dans des conditions d'asepsie telles qu'après le passage à l'étuve nos milieux n'avaient pas cultivés. La technique choisie ne fut pas très différente de celle utilisée précédemment.

Le liquide glucosé eut une formule variable suivant que nous expérimentions en même temps sur le sang et les organes ou seulement sur les organes.

Pour le sang et les organes, le liquide employé avait la composition suivante :

Phosphate disodique	2 gr
Chlorure de Sodium	4 gr
Glucose pur	2 gr
Citrate de soude	6 gr
Eau distillée q. s.	1000 cc

L'addition de citrate était nécessaire pour empêcher le sang de coaguler.

Pour l'action des organes seuls, le citrate de soude était supprimé.

Le matériel utilisé comprenait des tubes et des boîtes de Pétri stérilisées et tarées.

Nous avons expérimenté sur les organes du cobaye, du lapin, du chien, du mouton et du bœuf.

Pour opérer sur des organes privés le plus possible de sang, nous avons sacrifié les cobayes, les lapins et les chiens par

saignée. Pour le bœuf et le mouton, les organes furent recueillis à l'abattoir, sitôt après la mort.

La technique expérimentale fut la suivante, chaque fois que les circonstances nous le permirent ; de chaque organe nous prélevions 2 gr. : 1 gramme était placé dans une petite boîte de Petri de 4 cm. de diamètre avec 4 cc de solution, le tout mis immédiatement à l'étuve à 37°, 1 gramme placé dans un tube avec 4 cc de la même solution. Le tube bouché était porté au B. M. bouillant 5 minutes, pour avoir un arrêt complet de la glycolyse. Par une succession d'expériences, nous avons pu constater que la chauffe supportée par ces tubes n'avait aucune influence sur la concentration des solutions. Les organes avant l'addition de la solution étaient réduits aux ciseaux en pulpe grossière. Tous les prélèvements étant faits de façon aseptique, on parvient avec assez de facilité à éviter toute fermentation. Après 6 heures d'étuve à 37° et 16 heures à la T° du laboratoire, le dosage par la méthode de Folin et Wu était effectué sur le contenu des boîtes de Pétri et des tubes témoins portés à 100°. Le contenu des tubes témoins où la glycolyse était arrêtée par le bain-marie à 100°, par le formol ou la coagulation nous permettait de tenir compte de l'apport en substance réductrice de chaque organe. Nous ferons à ce sujet les mêmes réserves que M. Ljun-dahl fait sur la glycolyse sanguine, dans la citation reproduite ci-dessus. L'inconnu où l'on est sur la part à donner au glucose, dans un résultat, se retrouve dans toutes les méthodes reposant sur la réduction d'une solution alcalino-cuprique. Nous n'avons pu doser qu'un bloc de substances précipitant la liqueur de Folin et Wu, après défécation du liquide par l'acide tungstique.

Comme on pouvait le prévoir, le fragment de foie apporte une quantité telle de substances réductrices, qu'on est gêné dans l'appréciation du pouvoir glycolytique de cet organe ; le muscle, en particulier, le myocarde et le sang, en apportent une quantité moindre, mais cependant importante.

Quant aux autres organes que nous avons étudiés, les quan-

tités de substance réductrice sont comparables entre elles, les variations n'étant jamais très marquées, sans qu'on puisse cependant opérer entre eux un classement à ce sujet.

Nos recherches ont porté sur les organes de 6 cobayes, 6 lapins, 3 chiens, 2 moutons et 2 bœufs.

Chez le cobaye, la quantité d'organe est si faible que nous n'avons pu utiliser que le poumon et le rein. Nous citerons seulement une expérience faite avec un cobaye rendu tuberculeux expérimentalement et dont la rate, le foie et même le poumon étaient farcis de nodules tuberculeux.

	Poumon de cobaye	Liquide glucosé
I	1 gr.	4 cc.
II	1 gr.	4 cc. porté à 100° 5 minutes

Les deux récipients sont mis 6 heures à l'étuve à 37° et restent 14 heures à la T° ambiante.

	Sucre total	Perte réelle	Perte p. 100
I	7.24	6.08	45.6
II	13.32		

Le dosage fait en même temps de la solution glucosée donne pour 4 cc.

III	13.28.
-----	--------

Voici quelques chiffres obtenus sur le lapin :

Première Expérience : Lapin N° 4 :

Lapin (4) tué par section de la carotide, prélèvement de sang à l'artère carotide et utilisation pour tous les organes de la solution citratée :

I	Sang 1 gr. + 4 cc. de solution
II	Testicule 1 gr. + 4 cc. de solution
III	Rein 1 gr. + 4 cc. de solution
IV	Poumon 1 gr. + 4 cc. de solution

6 heures étuve à 37°. 16 heures température ordinaire.

Dans les tubes témoins (I', II', III', IV') la glycolyse fut

arrêtée par précipitation immédiate des albumines à l'aide du tungstate de soude et de $\text{SO}^4 \text{H}^2 \frac{2}{3} \text{N}$. (méthode Folin et Wu)

Tissu ou organes	Sucre total	Perte réelle	Perte p. 100
I Sang (glycolyse)	8.64	2.68	23
I' Sang (pas de glycolyse)	11.32		
II Testicule (glycolyse)	4.92	5.08	50
II' Testicule (pas de glycolyse)	10.00		
III Rein (glycolyse)	4.32	7.08	62
III' Rein (pas de glycolyse)	11.40		
IV Poumon (glycolyse)	3.36	3.36	50
IV' Poumon (arrêt incomplet)	6.72		

La solution glucosée dosée en même temps donne :
pour 4 cc. + 8,88

Nous voyons que le sang, dans ces conditions, a un faible pouvoir glycolytique, vis-à-vis du rein et du testicule. Le tube témoin du poumon a glycolysé, malgré l'action de l'acide, puisque 4 cc. de solution glucosée contiennent plus de sucre que 4 cc. de solution, plus un gramme de poumon. Il y a à constater aussi les quantités de substance réductrice apportées par le sang, le testicule et le rein.

Deuxième expérience. — Lapin N° 5 :

1 gramme d'organe + 4 cc. de solution sucrée.

	Quantité de sucre		Perte réelle	Perte p. 100
	initiale	finale		
Sang	11.76	9.52	2.24	19
Cœur	11.40	8.88	2.52	22
Cerveau	11.52	8.20	3.32	28
Testicule	11.00	5.60	5.40	49
Rein	10.40	4.80	5.60	53
Poumon	11.20	4.20	7.00	62

La glycolyse avait été arrêtée par la température de 100° pendant 5 à 10 minutes.

Les résultats de cette expérience sont comparables dans leurs proportions avec la précédente et montrent l'activité glycolytique considérable du poumon.

Cette action est bien nette dans l'expérience suivante, (la glycolyse fut arrêtée par 2 gouttes de formol à 40 %)

Troisième Expérience. — Lapin N° 3.

Quantité de sucre		Perte réelle	Perte p. 100	
Initiale	Finale			
Sang	8.85	7.85	1.00	11
Poumon	6.20	3.20	3.00	48
La solution glucosée contenait pour 4 cc. :				
		6.64		

Le sang aurait apporté dans cette expérience une forte quantité de substance réductrice, puisque 1 gramme de sang, soit environ 1 cc. aurait apporté 2,21.

Voici quelques chiffres obtenus en ne tenant pas compte du sucre apporté par l'organe et en ne prenant comme terme de comparaison que la solution glucosée.

Quatrième expérience. Lapin n° 2.

Sacrifié par saignée. 1 gr organe + 4 cc de solution glucosée

		Quantité de sucre			
		Initiale	Finale	Perte réelle	Perte p. 100
Moelle osseuse		5.24	4.12	1.12	21
Rein		5.24	2.48	2.76	52
Poumon		5.24	3.80	1.44	27
Cerveau		5.24	4.00	1.24	23
Rate		5.24	4.44	0.80	15

En se basant sur les expériences précédentes, où les organes examinés apportaient une quantité comparable de substance réductrice, nous voyons que si la proportionnalité existe toujours, le pouvoir glycolytique du poumon est très amoindri.

Dans les mêmes conditions, voici les chiffres obtenus avec des organes de bœuf : en opérant toujours avec 1 gramme d'organe pour 4cc de solution glucosée dont le titre est déterminé à chaque dosage et sert de témoin.

Bœuf I.

	Quantité de sucre		Perte réelle	Perte p. 100
	Initiale	Finale		
Poumon	7.52	4.12	3.40	45.2
Rate	7.52	4.04	3.48	46.2
Pancréas	7.52	3.80	3.72	49.4
Ganglion iliaque	7.52	4.72	2.80	37.2

La progression montre le pouvoir glycolytique prédominant du pancréas, mais par suite du temps écoulé entre la mort de l'animal et l'utilisation des organes il semble qu'il y ait eu une déperdition générale dans le pouvoir glycolytique.

Bœuf II.

	Quantité de sucre		Perte réelle	Perte p. 100
	Initiale	Finale		
Poumon	8.40	3.28	5.12	60
Rate	8.40	5.24	3.16	37
Pancréas	8.40	2.72	5.68	67
Ganglion iliaque	8.40	4.24	4.16	49

Les chiffres de cette expérience sont comparables pour le poumon et la rate avec ceux déjà obtenus chez le lapin. Ils sont démonstratifs pour le pancréas et le poumon.

Avec les organes de chien, les chiffres obtenus montrent surtout l'apport du foie en substance réductrice et l'impossibilité dans laquelle on se trouve de mesurer un pouvoir glycolytique quelconque. Dans l'expérience suivante le volume de solution employé n'était que de 2cc.

	Quantité de sucre		Perte réelle	Perte p. 100
	Initiale	Finale		
Rate	3.80	2.32	1.28	38
Foie	3.80	8.40	En plus	En plus
Poumon	3.80	0.86	2.94	77
Moelle	3.80	0.86	2.94	77

Avec le poumon nous avons, en utilisant un broyeur Latapie, cherché si le pouvoir glycolytique variait suivant l'état de l'organe. Nous avons obtenu dans quelques cas une glycolyse plus forte avec la pulpe, mais l'expérience suivante faite avec du poumon de mouton prélevé dès la saignée de l'animal montre le contraire :

1 gr d'organe pour 4cc de solution.

Etuve à 37°, 6 heures ; glacière 16 heures.

L'arrêt de la glycolyse a été effectué à 100° .

	Quantité de sucre		Perte réelle	Perte p, 100
	Initiale	Finale		
Poumon incisé	5.80	0.76	5.04	86.8
Poumon pulpé	6.32	2.20	4.12	65.1

Aucune fermentation microbienne n'était décelable dans les deux cas, mais le poumon incisé a agi dans une petite boîte de Pétri (4 cm de diamètre) tandis que la pulpe avait été mise dans un tube à essai ordinaire. Cette différence peut s'expliquer par les différences de surface d'oxygénation entre les deux essais. La glycolyse est en effet arrêtée dans le vide ou en milieu anaérobie (couche d'huile de vaseline).

Pour donner un tableau résumant les résultats obtenus, nous ferons une moyenne des divers pourcentages. Nous aurons ainsi, non une valeur réelle du pouvoir glycolytique des organes, mais une échelle de comparaison. Le foie ne peut être rangé dans ce tableau.

	Perte p. 100 moyenne
Sang	18
Cœur (muscle)	22
Cerveau	25
Rate	34
Tissu ganglionnaire	43
Moelle osseuse	44
Testicule	50
Poumon	51
Rein	55
Pancréas	58

Nous insisterons pour dire que ce tableau n'est qu'une moyenne d'expériences « *in vitro* », et qu'on ne peut en rien prétendre qu'il en est ainsi « *in vivo* ». Dans la célèbre expérience de la jugulaire de cheval liée en deux points, aucune glycolyse ne se produisait dans le sang contenu entre les deux ligatures. Mais si l'on retournait de temps en temps le vaisseau, le brassage des éléments se faisait et l'on constatait nettement l'hémoglycolyse. Dans nos expériences en boîte de Pétri, les globules sanguins se déposaient sur le fond de la boîte en mince couche, tandis que les débris d'organes présentaient pour la glycolyse une plus grande surface de contact.

De ces recherches il découle que non seulement le pancréas et le rein, mais le poumon et le testicule ont aussi un pouvoir glycolytique élevé et constant. Une autre classe est formée par les organes hémotopocétiques (rate, moelle osseuse, ganglion) ; enfin nous trouvons le cerveau, le muscle et le sang qui ont une action bien moindre.

A titre documentaire nous signalerons une même échelle faite sur la richesse des tissus et organes en nucléase. La nucléase est un endoenzyme qui décompose l'acide nucléinique en acide phosphorique, purines et bases protéidiques. Son action est gênée par une faible quantité de carbonate de soude, arrêtée par une forte, entravée par l'acide acétique et

elle a son optimum en milieu légèrement acide. Des recherches faites chez l'homme, le chien, le cheval, la vache; le lapin, la poule et la sandre (poisson de rivière), Youtchtchenko a donné l'échelle suivante de richesse en nucléase : foie, rein, rate, pancréas, corps thyroïde, cerveau, capsules surrénales, poumons, ganglions, glandes génitales, cœur, sang, muscle. Nous avons rapporté cette liste comme comparable en plusieurs points avec celle du pouvoir glycolytique.

Les Fonctions internes du Poumon

Il semble intéressant d'attirer l'attention sur le pouvoir glycolytique du poumon qui, dans nos expériences, a toujours été très voisin de celui du pancréas, dont on connaît, depuis longtemps, l'action sur la glycémie *in vivo* et *in vitro*. La constatation de ce pouvoir glycolytique pulmonaire, au moment où MM. Roger et Léon Binet mettent en relief la lipopexie et la lipodiérèse dans le même organe, prouve qu'à côté de la fonction externe, il faut considérer ici aussi la fonction interne. M. Roger fait ressortir que, dans l'étude du foie, les découvertes de Claude Bernard sur les fonctions internes de cet organe, firent rejeter au second plan la sécrétion biliaire qui en est la fonction externe. « Une évolution analogue se produit dans l'histoire du poumon. Si la fonction respiratoire ou fonction externe conserve toujours une importance capitale, on entrevoit, à côté d'elle, une série de fonctions internes ; on reconnaît peu à peu que le poumon agit sur les diverses substances qui le traversent, qu'il les arrête et leur fait subir de profondes modifications. » (*Revue de France*). L'activité glycolytique est une propriété générale du protoplasma, mais la différenciation s'est faite parmi les groupes de cellules, parfois d'une façon telle qu'elle masque la qualité originelle. Dans le poumon, la fonction respiratoire semblait avoir absor-

bé toute l'activité cellulaire. Nous croyons qu'il n'en est pas ainsi, et la conception de Lavoisier, faisant du poumon le principal foyer de la chaleur animale, pour être exagérée, ne doit pas être négligée. Multiples sont les fonctions remplies par un même organe et une même fonction peut être remplie par plusieurs organes collaborant à un rôle analogue.

Action des Extraits d'organes

Les essais d'extraction du ferment glycolytique du sang ou des organes n'ont jamais abouti : Lépine a obtenu sa précipitation en produisant la formation d'un précipité de phosphate tricalcique dans une macération de globules sanguins lavés. Le précipité obtenu lavé produisait à son tour la glycolyse. Arronsohn, en 1902, fit plusieurs tentatives infructueuses.

Pour notre part, nous avons cherché à obtenir des macérations d'organes riches en ferment glycolytique. Nous avons essayé, tout d'abord, sans antiseptique, mais, devant les doutes qui pouvaient résulter d'une pollution involontaire, nous avons eu recours à des extraits chloroformés. Levene et Meyer ont prétendu que le chloroforme arrêta la glycolyse, nous avons constaté seulement qu'il la gêne beaucoup. Arnheim et Rosenbaum ont obtenu une glycolyse nette en présence de chloroforme, avec des poudres de foie, de pancréas et de muscle.

En utilisant la méthode de précipitation de Lépine, au phosphate de chaux, avec une macération de pulpe de poumon de bœuf ou de mouton dans la glycérine, à parties égales, pendant une semaine environ, nous avons dilué et filtré le macéré obtenu. Dans le liquide clair, nous avons fait former un précipité de phosphate de chaux. Ce précipité, bien lavé et exprimé, fut dilué dans de l'eau stérilisée.

	Dilution de phosphate	Solution glucosée
Tube 1	0 cc. 5	2 cc. (100°)
Tube 2	0 cc. 5	2 1 goutte de formol.
Tube 3	0 cc. 5	2

Après 6 heures à l'étuve à 37°, et 16 heures de glacière, nous avons fait le dosage.

	Quantité de glucose		Perte	Perte
	initiale	finale	réelle	p. 100
Tube 1 (100°)	4.88	4.88		
Tube 2 (Formol)	4.88	4.88		
Tube 3 (glycolyse)	4.88	4.28	0.60	12

Nous aurions ainsi obtenu, pour le ferment glycolytique du poumon le même résultat que MM. Roger et Binet pour le ferment lipodietrique du même organe et nous constatons que le formol et la chaleur nous ont donnés, dans les tubes témoins le même résultat. Nous avons utilisé aussi la méthode de Besredka, pour l'extraction de l'eudotoxine dysentérique.

Voici le détail d'une de nos expériences : 5 grammes de pulpe de poumon de mouton sont broyés dans un récipient stérile, avec 0 gr. 20 de phosphate de soude et 0 gr. 60 de chlorure de sodium : 10 cc. d'eau stérilisée sont ajoutés peu à peu, et le mélange hypertonique est laissé 24 heures à la glacière, puis ramené à l'isotonie avec de l'eau distillée stérilisée.

Dans 2 tubes, nous avons mis 2 cc. de solution glucosée et 1 cc. de l'extrait pulmonaire obtenu.

Le tube 1 reçoit une goutte de formol et les deux tubes restent 6 heures à l'étuve à 37°, puis 16 heures à la glacière.

	Quantité de glucose		Perte réelle	Perte p. 100
	Initiale	Finale		
	6.00	5.40	0.60	10

Nous avons obtenu des résultats comparables avec le poumon de bœuf : L'examen microscopique des tubes où

se faisait la glycolyse n'a jamais montré d'opalescence pouvant faire supposer un début de culture microbienne.

Le danger des souillures est suffisamment grand par les deux méthodes que nous venons de signaler pour que nous ayons cherché un mode qui nous permette d'opérer en toute sécurité.

M. Turro a récemment décrit un moyen d'extraction des ferments cellulaires. Par ce procédé, il dit avoir obtenu un liquide riche en amylase et en bactério-lysine. Le morceau d'organe est desséché dans le vide et pulvérisé ; à 1 gr. de poudre, on ajoute 20 cc. d'eau stérilisée salée à 1 % et on agite un quart d'heure. On additionne de 20 gouttes de chloroforme, on agite de même façon, et on porte à l'étuve à 40° pendant 12 heures. On centrifuge et on décante le liquide obtenu.

Nous avons fait nos essais avec du poumon de mouton, des organes de lapin (poumon-terveau) et de cobaye (poumon-rein) en pulpe fraîche ou en poudre desséchée.

En utilisant du poumon et du rein de cobaye pulpés aux ciseaux et 1 gr. de cette pulpe, traitée par la méthode de Turro, nous eûmes les résultats suivants :

2 cc. de solution de glucose en présence de
1 cc. d'extrait chloroformé à 1 gr. d'organe pour
20 cc. de solution de chlorure de sodium à 9 0/100.

Un tube est porté à 100°. Un tube est ensemencé avec des streptocoques et des staphylocoques, un tube est stérile ; les trois sont mis à l'étuve 5 heures.

Pour le poumon, nous obtenons plus de sucre réducteur dans le tube à glycolyse active que dans le tube porté à 100°.

Pour le rein, dans les mêmes conditions :

	Quantité de glucose		Perte réelle	Perte p. 100
	initiale	finale		
Tube (sans microbes)	4.50	4.26	0.24	5.3
Tube (avec microbes)	4.50	4.26	0.24	5.3

La glycolyse obtenue est faible, mais la présence de mi

crobes n'a pas augmenté la glycolyse, le chloroforme a arrêté leur développement.

Avec la pulpe de poumon de mouton, nous avons employé 2 macérations de richesse différente :

	Macération I	Macération II
Pulpe	1 gr.	5 gr.
Solut. physiologique à 9 0/100	20 cc.	30 cc.
Chloroforme	0 cc. 5	1 cc.
Etuve à 37° — 20 heures.		

Les 2 extraits obtenus centrifugés sont mis en présence de solution glucosée, 1 cc. d'extrait pour 2 cc. de solution et restant 6 heures à l'étuve.

Macération I	Macération II
Glycolyse = 7 p. 100	Glycolyse = 10 p. 100

A un lapin sacrifié par saignée, nous avons prélevé aseptiquement le poumon et le cerveau. Une partie des organes est mise à sécher sous la cloche à vide, l'autre est utilisée telle quelle, pour faire l'extrait chloroformé : 1 gr. d'organe pour 10 cc. de sérum physiologique et 10 gouttes de chloroforme.

Après 20 heures d'étuve, le liquide est centrifugé. 2 cc. de solution glucosée sont mis en présence de 1 cc. d'extrait de poumon et de cerveau. La glycolyse est arrêtée en portant un des tubes à 100°.

Extraits	Glucose		Perte réelle	Perte p. 100
	initiale	finale		
Poumon	6.00	5.60	0.40	6.66
Cerveau	6.00	6.00	—	—

avec les organes frais, seul l'extrait de poumon a glycolysé.

En utilisant l'organe sec, nous avons opéré sur 1 gr. de poudre sèche, 20 cc. eau distillée et 20 gouttes de chloroforme.

L'expérience fut disposée de même façon.

<i>Poumon</i>	Sucre total	Perte réelle	Perte p. 100
Tube 1 (100°)	6.66		
Tube 2 (6 h. d'étuve)	6.39	0.27	4
Tube 3 (18 h. d'étuve)	5.70	0.96	14

Cerveau

Tube 1 (100°)	6.66		
Tube 2 (6 h. étuve)	6.66	0	0
Tube 3 (18 h. étuve)	6.66	0	0

Nous avons obtenu, avec le poumon, une glycolyse proportionnelle au temps passé à l'étuve. le cerveau qui n'a pas glycolysé nous sert de témoin et de preuve de l'action nulle du chloroforme comme agent réducteur.

Nous avons fait, avec la poudre de poumon, un deuxième extrait chloroformique en utilisant la solution physiologique à 9 0/00 au lieu de l'eau distillée.

<i>Poumon</i>	Sucre total	Perte réelle	Perte p. 100
Tube 1 (100°)	?		
Tube 2 (6 h. étuve)	7.38		
Tube 3 (18 h. étuve)	6.66	0.72	9.8

La glycolyse n'est comparable qu'entre 6 h. et 18 h. d'étuve et nous voyons qu'elle est de près de 10 %.

Sur un jeune lapin ayant au cou une grosse tumeur, nous avons prélevé aseptiquement les poumons et les avons mis à dessécher aussitôt sous la cloche à vide.

Avec la poudre, nous avons fait un essai direct et un extrait chloroformique à l'eau distillée.

0 gr. 20 de poudre + 2 cc. de solution glucosée. L'un des tubes fut porté à 100°. Etuve à 37°, 6 heures. 2 cc. de solution glucosée, contenait 6,34.

<i>Poudre</i>	Sucre total	Perte réelle	Perte p. 100
1 (100°)	7.62		
2 (glycolyse)	7.42	0.20	2.6

La glycolyse peut être considérée comme nulle, mais la poudre a apporté une forte quantité de substance réductrice : 7,62 — 6,34 = 1,28.

L'extrait fut fait avec 0,60 de poudre, 10 cc. eau distillée et 10 gouttes de chloroforme. 2 cc. de solution glucosée pour 1 cc. d'extrait et les tubes furent laissés 18 h. à l'étuve.

<i>Extrait</i>	Sucre total	Perte réelle	Perte p. 100
1 (100°)	7.62		
2 (glycolyse)	7.26	0.36	5
Solution glucosée (2 cc.)	6.14		

Nous retrouvons ici la même augmentation en substance réductrice, mais la glycolyse est encore bien faible pour faire foi. Nous serions tentés de rapprocher ce résultat de ceux de Conheim, constatant que le pouvoir glycolytique des extraits de muscle variait suivant l'état de santé des chats sacrifiés ou leur alimentation, sucrée ou non.

Avec la pulpe de mouton dont nous constatons le pouvoir glycolytique à l'état frais, nous avons fait un extrait chloroformé sur l'organe, à l'état frais et un extrait avec la poudre obtenue par dessiccation dans le vide.

Avec 1 cc. d'extrait d'organe frais centrifugé et 2 cc. de solution glucosée, après 6 heures étuve à 37°, nous avons eu les chiffres ci-dessous.

	Sucre total	Perte réelle	Perte p. 100
1 (100°)	5.19		
2 (glycolyse)	4.92	0.27	5
3 (2 cc. solution)	4.44		

L'examen microscopique pratiqué sur le liquide du tube 2 ne montre aucune forme microbienne, mais des restes d'éléments cellulaires en assez grand nombre.

Avec la poudre sèche, nous avons mis en présence 2 cc. de solution glucosée + 0,10 de poudre.

	Sucre total	Perte réelle	Perte p. 100
1 (100°)	6.02		
2 (glycolyse)	4.26	1.76	29
3 (2 cc. solution)	5.00		

Nous retrouvons ici une augmentation entre le tube 1

et le tube 3, signe de l'apport d'une substance réductrice ; la glycolyse est ici très forte, mais la présence d'une flore microbienne à l'examen microscopique ne nous permet pas d'en affirmer la juste valeur.

L'extrait chloroformique obtenu avec la poudre pulmonaire dans les mêmes conditions que pour l'extrait d'organe frais nous a donné :

	Sucre total	Perte réelle	Perte p. 100
1 (100°)	6.30		
2 (glycolyse)	6	0.30	5
3 (2cc solution)	4.38		

Même valeur glycolytique mais plus fort apport de substance réductrice.

De cette série d'expériences nous pouvons conclure que les extraits d'organes ont un pouvoir glycolytique mais qui n'est pas plus puissant que celui de l'organe même. D'ailleurs la présence de débris cellulaires et d'albumine dans l'extrait montre que le pouvoir glycolytique peut être encore attribué aux cellules ou à leurs éléments.

Action des poudres d'organes

Nous avons aussi recherché l'action glycolytique des poudres d'organes. En utilisant les extraits, notre première idée fut de nous servir des extraits glycérinés. Mais la glycérine est une substance de plus à tenir compte dans les résultats car en circulation artificielle à travers le foie elle peut être transformée en acide lactique.

Nous nous sommes servis de poudres d'organes, extraits dits totaux, que les laboratoires Choay ont eu la complaisance de mettre à notre disposition.

Ces poudres sont obtenues d'organes soigneusement récoltés et desséchés rapidement dans le vide vers 0°.

Nous avons opéré en milieu chloroformé et non chloroformé.

Toutes nos expériences sont sur le même type :

0 gr. 10 de poudre et 2cc de solution glucosée.

6 heures d'étuve à 37° — 16 heures de glacière.

2 tubes : 1 pour la glycolyse, l'autre à glycolyse arrêtée.

En milieu chloroformé.

	Réduction		Perte réelle	Perte p. 100
	Initiale	Finale		
Ext. hématique	4.60	4.60	0	
Ext. pulmique	8.00	8.00	0	
Ext. pancréatique	4.44	4.00	0.44	11

L'extrait hématique et l'extrait pulmique n'ont pas eu d'action glycolytique ; la substance réductrice est presque doublée avec l'extrait pulmique. Avec l'extrait pancréatique nous avons eu une glycolyse nette.

En milieu non chloroformé :

Le chloroforme ralentit l'action glycolytique, aussi avons-nous fait des essais en le supprimant.

Au point de vue microbien, nous avons constaté que les microbes qui existaient dans nos tubes après le passage à l'étuve étaient de ceux qui ne font pas fermenter le sucre. Malgré leur présence, parfois très notable, nous avons trouvé en particulier pour l'extrait orchitique, le même chiffre de glucose dans les deux tubes.

Poudres	Réduction		Augmentation approximative	Perte réelle	Perte p. 100
	Initiale	Finale			
Poumon	9.08	9.08	3.00	0	0
Pancréas ...	6.66	5.32		1.34	20
Rein	5.12	4.00		1.12	21
Rate	4.44	4.44		0	0
Testicule ...	5.00	5.00		0	0
Cerveau	6.66	6.66		0	0
Moelle	6.66	6.66		0	0

Avec les poudres de rein et de pancréas, nous avons constaté une glycolyse nette, glycolyse plus forte pour le pancréas en milieu non chloroformé qu'en milieu chloroformé.

Seule la poudre de poumon a produit une augmentation de réduction de près d'un tiers, la même qu'en présence de chloroforme.

Un essai fait sur la même poudre de pancréas à un mois d'intervalle nous a donné une perte p. 100 de 14 au lieu de 20.

Nous concluons que des poudres d'organes essayées, seules les poudres de rein et de pancréas nous ont donné une glycolyse appréciable. La poudre de poumon a apporté une très notable quantité de substance réductrice.

DEUXIÈME PARTIE

Études sur quelques conditions chimiques nécessaires pour l'étude de la glycolyse " in vitro "

En faisant avec M. P. Mauriac, les recherches sur le pouvoir glycolytique du sang et des organes, nous nous sommes parfois trouvés en présence de résultats qui ne concordaient pas avec nos résultats précédents ou même la glycolyse ne se produisait pas. C'est ainsi que nous avons été amené à étudier d'une façon suivie la réaction des milieux et nous avons utilisé la méthode colorimétrique imaginée par Sorensen, perfectionnée par Clark et Lubs. Pour arrêter la glycolyse, plusieurs moyens étaient proposés, nous les avons comparés. Pour rechercher la concentration qui donnerait la plus forte perte pour 100, c'est-à-dire la glycolyse la plus nette, nous avons fait varier le titre de nos solutions de glucose. Nous avons fait varier aussi la concentration saline de nos solutions pour étudier la concentration la plus favorable à la glycolyse. Ce sont ces recherches que nous exposerons.

CHAPITRE IV

ETUDE DES AGENTS EMPLOYÉS POUR ARRÊTER LA GLYCOLYSE

Dans toutes nos expériences, l'arrêt de la glycolyse dans le tube témoin avait une grande importance, car c'est de l'arrêt total de la glycolyse que dépendait le pourcentage final.

Action du fluorure de sodium

Pour le dosage du sucre dans le sang, depuis les travaux d'Arthus, on utilise, pour empêcher la glycolyse, du fluorure de sodium pulvérisé et mélangé au sang dès le prélèvement à la veine — à la dose de 1 à 2 gr. pour 100. MM. Ambard, R. Clogne et A. Richard ont montré l'incertitude du fluorure de sodium et les mécomptes qu'il peut provoquer. Nous avons préparé des solutions à doses croissantes de fluorure de sodium et nous avons mis 0cc 20 de sang de lapin citraté pour 2cc de solution. Les dosages furent faits après 6 heures d'étuve (moyenne de 3 expériences).

	Sucre total	Perte réelle
I Pas de fluorure	3.38	0.26
II Fluorure 1 gr. p. 1000	3.48	0.16
III Fluorure 2 gr. p. 1000	3.64	0
IV Fluorure 3 gr. p. 100	3.64	0

En utilisant les résultats de Rona et Wilenko qui ont montré que la glycolyse s'arrêtait pour une réaction du milieu,

voisine de P^u 6.50, M. Ambard a conseillé l'addition de phosphate acide de potasse et emploie un mélange de 5 gr. de fluorure de sodium et 10 gr. de $P O^4 H^2 K$ par litre de sang. On obtient ainsi une réaction voisine de P^u 5 ; la coagulation du sang n'a pas lieu et il ne se produit ni glycolyse ni hémolyse. Nous n'avons pas utilisé ce procédé pour ne pas encore ajouter un nouveau sel à notre solution. Nous ferons remarquer à ce sujet l'inconvénient qui résulte de l'addition d'alcalins ou d'acides quand on emploie la méthode de Folin-Wu pour le dosage du glucose.

L'addition de citrate modifie la réaction du milieu d'une façon parfois telle que la quantité de $S O^4 H^2 2/3 N$, calculée pour donner l'acidité nécessaire à la précipitation des albumines, ne soit plus suffisante et la coagulation ne s'effectue pas. De même l'excès d'acide nuit pour la réduction de la liqueur de cuivre.

Influence de la concentration saline sur la glycolyse

Nous avons recherché, en dehors des sels métalliques, les agents physiques ou chimiques qui pourraient nous donner le résultat désiré.

Pour la détermination de l'indice glycolytique, nous avons eu recours à une solution hypotonique. Le manque de concentration saline produit l'hémolyse, le laquage du sang. On avait d'abord pensé que la destruction des éléments sanguins empêchait la glycolyse, mais les travaux de Rona et Arnheim ont prouvé que c'était l'absence de sels et en particulier de phosphates qui était en cause. W. Griesbach a constaté que si, après laquage, les sangs de chien et de bœuf ont perdu tout pouvoir de détruire le glucose, par contre ils peuvent encore fabriquer de l'acide lactique aux dépens de l'aldéhyde acétique ou de la dioxycétone ajoutés. Dans le processus normal de la glycolyse, il y aurait donc deux ac-

tions distinctes dont la première seulement réclamerait l'intégrité des cellules.

En solution aqueuse pure, nous avons constaté un arrêt absolu de la glycolyse, mais aussi une quantité totale de glucose plus forte qu'avec n'importe quel autre moyen. Cette question de l'arrêt de la glycolyse par l'hypotonicité de la solution employée, nous a fait rechercher la valeur optima de concentration saline. Nous avons utilisé une solution contenant 2 gr. de glucose, 2 gr. de phosphate disodique effleuri (sel de Sorensen) des quantités de Chlorure de Sodium variant de 0 à 10 gr. p. 1000 cc. d'eau distillée. Nous ajoutions à 2 cc. de solution 0 cc. 25 de sang de lapin citraté et les tubes étaient laissés 6 heures à l'étuve à 37°. Voici un exemple des résultats obtenus : (4 expériences).

				Glucose total	Perte réelle
I	— Phosphate, glucose, sang —	NaCl	0 p. 1000	4.31	+ 0.09
II	“ “ “	NaCl	2 p. 1000	4.22	0
III	“ “ “	NaCl	4 p. 1000	4.07	0.15
IV	“ “ “	NaCl	6 p. 1000	3.65	0.57
V	“ “ “	NaCl	8 p. 1000	3.91	0.31
VI	“ “ “	NaCl	10 p. 1000	3.98	0.24
VII	Tube (témoin comme tube III + 1 goutte			4.22	

Dans ce tableau nous voyons que si la glycolyse présente un maximum pour une concentration égale à 6 gr. de NaCl p. 1000, le résultat est inversé dans le tube I. par rapport au tube témoin formolé. L'eau distillée arrêta donc bien la glycolyse, mais en raison de l'influence des sels dans les solutions, on ne peut l'employer pour obtenir des résultats absolus : on ne peut utiliser son action que dans des études comparatives, telle que la détermination de l'indice glycolytique du sang.

Etude comparée des autres agents antiglycolytiques

L'emploi des sels et de la solution hypotonique ne pouvant être utilisés pour toutes nos expériences, nous avons comparé entre eux les autres modes d'arrêts de la glycolyse : le formol, la chaleur, la coagulation.

Denis et Aldrich ont préconisé l'emploi d'une goutte de formol pour 5 cc de sang oxalaté. L'addition de formol semblait être nuisible à la suite des opérations, aussi les auteurs affirment que même à une double dose le formol n'agit pas sur la réaction. Nous avons vérifié ces dires et l'addition d'une goutte de formol à 2 cc de solution sucrée, en arrêtant la glycolyse d'une façon certaine, ne nous a jamais donné de résultats divergents avec ceux obtenus par les autres méthodes.

Le formol à la dose d'une goutte pour 2 cc. d'eau distillée produit une réduction de la liqueur de Fehling ; dans les mêmes conditions, la liqueur alcalino-cuprique de Folin et Wu, n'est pas réduite. Nous ferons remarquer que de plus cette goutte de formol est diluée au 1/20, quand on fait l'addition de la solution alcalino-cuprique dans nos expériences.

La chaleur détruit le pouvoir glycolytique du sang et des organes ; il suffirait même d'une température atteignant 60°. Dans nos expériences nous avons toujours employé une température voisine de l'ébullition, soit le bain-marie bouillant en y laissant les tubes pendant 5 à 10 minutes, soit en portant doucement à l'ébullition le contenu des tubes en chauffant à la flamme d'un bec Bunsen. Dans les deux cas nous avons obtenu des résultats identiques et c'est cette méthode que nous avons employée le plus fréquemment, en particulier pour les organes.

Nous avons employé aussi la coagulation. Nous avons traité immédiatement le tube témoin par le mélange tungstate de soude et $\text{S O}_4 \text{ H}^2 \frac{2}{3} \text{ N}$, qui est utilisé dans la méthode de Folin Wu pour la précipitation des albumines. Nous n'a-

vons opéré le dosage effectif que vingt-quatre heures après et nous avons obtenu pour le sang les mêmes chiffres qu'avec des tubes témoins où l'arrêt de la glycolyse avait été effectué par la chaleur ou le formol. Nous avons eu cependant quelques mécomptes avec la coagulation des organes tels que le poumon, qui se maintient en surface et n'est pas entièrement submergé par le liquide.

Pour arrêter la glycolyse, la chaleur et le formol nous paraissent les agents d'un emploi le plus pratique et d'une action aussi efficace.

CHAPITRE V

ACTION DE LA CONCENTRATION EN GLUCOSE SUR LE POUVOIR GLYCOLYTIQUE

Lépine, en ajoutant du glucose à du sang défibriné, a montré que la perte est à peu près proportionnelle à la teneur en sucre. Vandeput a confirmé ses conclusions et trouvé que, malgré quelques irrégularités, pour des richesses en sucre de 1 à 6 grammes p., 0/00 la plus forte perte de sucre correspond presque toujours à la solution la plus sucrée. Avec Madame Sieber, nous voyons que, pour des quantités de sucre variant entre 7 gr. 50 et 33 grammes, la glycolyse diminue beaucoup dans les solutions très sucrées, (in Lépine, *le Sucre du Sang*). Nous avons fait varier aussi la concentration en glucose de nos solutions, mais sans chercher un chiffre absolu. Le volume de nos solutions et le taux de glucose pour la minime quantité de sang ajoutée, ne nous permettent de donner que des résultats expérimentaux, sans en tirer la moindre conclusion générale sur le pouvoir glycolytique. Le but de nos recherches fut de déterminer la concentration optima qui nous fournirait la glycolyse la plus élevée.

Variations de la richesse en glucose en présence du sang

Nous avons utilisé le sang de lapin. Par ponction de la veine marginale de l'oreille, nous avons recueilli du sang dans une solution stérilisée de citrate de soude pour obtenir un

mélange final de sang incoagulable contenant 1/10 de son volume de citrate de soude.

Selon les expériences, nous avons utilisé, pour 2 cc. de solution glucosée, 0 cc. 25 ou 0 cc. 30 de sang citraté.

Nous donnerons les chiffres complets obtenus dans deux expériences et une moyenne résultant de trois autres expériences. Dans toutes nos expériences, les chiffres ont été multipliés par 1.000 pour la commodité de l'exposition.

Nous avons préparé des solutions contenant des doses progressives de glucose, depuis 1 jusqu'à 6 grammes p. 1.000 nous aurons :

Solution	A	1 gr.	p. 1.000
—	B	2 gr.	» »
—	C	3 gr.	« «
—	D	4 gr.	« «
—	E	5 gr.	« «
—	F	6 gr.	« «

A chaque expérience d'ailleurs, les titres de ces solutions préparées toujours extemporanément, furent vérifiés par l'emploi d'un tube témoin, ce qui donne, par exemple dans l'expérience II, des chiffres un peu différents de l'unité. A 2 cc. de solution, nous avons ajouté une quantité variable de sang, mais nous avons ramené tous nos chiffres à la glycolyse provoquée par 0 cc. 1 de sang, pour qu'ils soient comparables. La glycolyse a été arrêtée par une goutte de formol dans chaque tube témoin et tous les tubes ont été laissés 6 heures à l'étuve à 37° et 16 heures à la glacière.

Expérience I

Sucre total pour 2 cc. 25 de volume en expérience.

Sang citraté employé par tube = 0 cc. 25.

Solutions	Glucose		Perte réelle	Perte p.100	Perte p. 100 par 0cc.1 de sang citraté
	Initial	Final			
B	4.20	3.20	1.00	24	9.60
C	6.20	3.95	2.25	36	14.4
D	8.20	6.78	1.42	18	7.2
E	10.20	8.74	1.46	16	6.4

Expérience II

Sucre total pour 2 cc. 3 de volume en expérience.

Sang citraté employé par tube = 0 cc. 30.

B	4.10	2.87	1.23	30	10
C	6.70	3.92	2.78	41	13.6
D	8.54	6.21	2.33	26	8.6
E	10.50	8.74	1.76	16	5.3

Dans ces deux tableaux, nous avons donné deux exemples de la glycolyse obtenue avec 0 cc. 25 et 0 cc. 30 de sang citraté, et le rapport pour 0 cc. 1 de sang ; nous voyons que ces chiffres sont comparables et qu'ils indiquent pour la solution C, un accroissement très net de la perte réelle de la glycolyse p. 100. Nous résumerons en un seul tableau, 3 autres expériences où les tubes témoins ont été portés à 100° pour arrêter la glycolyse.

Nous ne donnerons pas ici un tableau total, mais la glycolyse rapportée à 0 cc. 1 de sang, confirmant les résultats précédents, mais avec une variation d'intensité.

	Glycolyse p. 100 par 0 cc. 1 de sang
I Solution à 1 p. 1.000	6
II Solutions à 2 p. 1.000	7
III Solutions à 3 p. 1.000	15
IV Solutions à 4 p. 1.000	12
V Solutions à 5 p. 1.000	8

Ainsi, pour une même quantité de sang, dans le même temps,

la quantité de sucre disparue ne semble pas proportionnelle à la quantité de sucre contenue dans la solution. Nous devons cependant faire remarquer que nous changeons presque complètement les conditions d'action du sang *in vivo*, la concentration des milieux et le rapport du sucre aux éléments figurés n'étant plus du tout comparables.

Variations de la richesse en sucre

pour une même quantité d'organes

Le sang présente un optimum de concentration en sucre pour l'action de son pouvoir glycolytique dans les conditions où nous nous sommes placés. Il en est de même pour les organes, comme le montrent les expériences suivantes ; mais ici, les chiffres obtenus n'ont pas la même rigueur.

Comme dans les expériences sur le pouvoir glycolytique comparé des tissus et des organes nous avons placé dans une boîte de Petri, 1 gramme d'organe prélevé aseptiquement et 4 cc. de solution glucosée de titre variable. Un tube témoin préparé de la même façon a été porté à 100° pour arrêter toute glycolyse.

Les boîtes de Petri ont été laissées 6 heures à l'étuve à 37° et 16 heures à la température ordinaire. Nous donnerons les chiffres de deux expériences ; dans la première, nous avons fait agir du poumon et du testicule, dans la deuxième, du poumon seul. Nous avons fait, sur le poumon, trois autres expériences qui nous ont fourni des chiffres similaires et que nous ne ferons que citer.

Première Expérience :

Sucre total pour 4 cc. de liquide

Solutions	Tube témoin	Boite de Petri	Perte réelle	Glycolyse p. 100
-----------	-------------	----------------	--------------	------------------

Poumon

B	6.92	2.72	4.20	60
C	10.16	3.80	6.36	62
D	14.52	10.08	4.44	30
E	17.68	11.36	6.32	36

Testicule

B	6.92	3.24	3.68	53
E	17.68	12.04	5.65	31

Deuxième Expérience :

Sucre total pour 4 cc. de liquide :

Poumon

C	12.00	4.32	7.58	64
F	24.00	20.40	3.60	15

En comparant les pertes réelles en glucose du tableau ci-dessus, nous ne trouvons pas ici les mêmes résultats que pour le sang. Mais le point intéressant de ces recherches est la glycolyse p. 100. Or, nous voyons qu'elle est la plus forte avec la concentration en glucose de 2 à 3 gr. p. 1.000.

Conclusions. — Pour l'étude de la glycolyse *in vitro*, le titre de la solution de glucose est un facteur important qui commande en partie le degré de la glycolyse.

Pour le sang en particulier, l'étude des pertes réelles montre que, dans les conditions d'expérience, la glycolyse n'est pas proportionnelle à la quantité de glucose.

L'étude de la glycolyse pour cent donne une courbe à maximum correspondant à une concentration optima environ 3 gr. p. 100.

CHAPITRE VI

ACTION DE LA REACTION DU MILIEU SUR LA GLYCOLYSE

Importance de la réaction des milieux

La glycolyse *in vitro* est extrêmement sensible aux moindres modifications de la réaction du milieu. De nombreux auteurs ont déjà attiré l'attention sur ce point. Arronsohn a tenté de déterminer les doses d'alcalinité et d'acidité les plus favorables à l'action de la glycolyse *in vitro*. En ajoutant du glucose à du sang défibriné, puis des quantités croissantes de carbonate de soude, il constata que toute addition produit un ralentissement marqué sur l'activité glycolytique, mais que ce ralentissement n'est pas proportionnel aux doses ajoutées. Le tableau suivant résume son travail.

Carbonate de soude	Activité
0 gr. 000	100
0 gr. 192	24.1
0 gr. 384	47.5
0 gr. 768	4.5
1 gr. 152	0

Mais si on prend les expériences du même auteur sur l'addition dans les mêmes conditions, d'acide lactique au lieu de carbonate de soude, on arrive à un tableau équivalent :

Acidité par litre	Activité
0 gr. 000	100 (moyenne)
0 gr. 096	22.0
0 gr. 192	10.7
0 gr. 288	7.6
0 gr. 384	35.3

Ces expériences sont troublantes en ce qu'elles donnent un maximum d'action aussi bien en milieu acide qu'en milieu alcalin. Malheureusement l'auteur, par manque de méthode utilisable sans doute, n'a pas donné la valeur de la réaction du milieu avant les additions d'acide ou de carbonate.

Ce point de départ est pourtant essentiel comme le montrent les expériences de Starling sur des chiens dépancréatés. En déterminant l'activité glycolytique en circulation artificielle de cœurs de chiens dépancréatés, cet auteur avait constaté que ces cœurs consommaient moins de sucre que ceux des chiens normaux. Il n'en était rien pourtant et Starling dut reconnaître que les différences obtenues étaient dues à la diversité de la réaction des milieux. Pour une même réaction, on obtenait une même consommation de sucre.

Nous reproduirons, d'après MM. Ambard et Chabanier les résultats obtenus en circulation artificielle par Rona et Wilenko :

Réaction du milieu	Consommation du sucre
P ^H 8	3
7.5	1
7	0.6

Rona et Wilenko emploient pour déterminer la réaction du milieu, la mesure de la concentration en ions hydrogène.

Détermination colorimétrique de la concentration en ions hydrogènes

Nous ne ferons pas ici l'exposé de la théorie de cette méthode, renvoyant aux notes bibliographiques pour les travaux très complets parus ces derniers temps en France, mais

nous en donnerons les caractères techniques tels que nous les avons utilisés.

Suivant la conception d'Arrhénius sur la dissociation électrolytique des solutions, un acide est un électrolyte dont la solution renferme un plus ou moins grand nombre d'ions H libres, une base, un électrolyte dont la solution contient plus ou moins d'ions O H libres. L'ion H ou l'ion O H peuvent indifféremment servir de mesure à la réaction d'un milieu ; en pratique on utilise exclusivement la concentration en ions H, même quand la solution est de réaction alcaline.

Par l'électrométrie on a pu établir mathématiquement que l'eau distillée, qui représente la vraie neutralité, contient par litre 0 gr. 000.000.1 d'hydrogène ionisé, que dix fois plus d'hydrogène ionisé est dans une solution normale au millionième, cent fois plus dans une solution normale au cent millième. Pour rendre la lecture plus commode, Sorensen a proposé de transformer ces fractions en logarithmes et l'on représente la valeur numérique de l'exposant par les lettres P^a , ainsi l'eau distillée a $C^a = P^a 7$.

Liquides		C^a	P^a
Solution normale d'acide	pure	1	0
	au 1/10	1/10	1
	au 1/100	1/100	2
	au 1/1000	1/1000	3
	au 1/10.000	1/10.000	4
	au 1/100.000	1/100.000	5
	au 1/1.000.000	1/1.000.000	6
Solution normale d'alcali	Eau distillée pure (neutre)	1/10.000.000	7
	au 1/1.000.000	1/100.000.000	8
	au 1/100.000	1/1.000.000.000	9
	au 1/10.000	1/10.000.000.000	10
	au 1/1.000	1/100.000.000.000	11
	au 1/100	1/1.000.000.000.000	12
	au 1/10	1/10.000.000.000.000	13
	pure	1/100.000.000.000.000	14

(In Manuel de Bactériologie de R. Bruynoghe)

La valeur numérique de l'exposant au logarithme augmente quand C'' diminue et vice-versa comme le montre le tableau ci-dessus.

Pour spécifier la réaction d'un milieu, il suffit de déterminer la concentration en ions d'hydrogène : cette détermination peut se faire mathématiquement par l'électrométrie ou d'une manière suffisamment approchée par la méthode colorimétrique imaginée par Sørensen et perfectionnée depuis, en particulier par Clark et Lubs.

Cette méthode repose sur l'emploi d'indicateurs colorés et de solutions étalons. Les indicateurs sont des substances qui subissent un changement profond de constitution accompagné d'un changement de couleur, par la variation de concentration des ions H^+ dans le milieu où elles sont dissoutes. Ces indicateurs ne subissent l'influence que de l'acidité ou de l'alcalinité libres.

Les liquides de comparaison, utilisés comme solutions étalons, doivent être choisis avec un soin particulier pour que leur concentration demeure invariable et qu'ils s'opposent aux variations en ions H^+ qui pourraient résulter des impuretés de l'eau, des vases ou des menus accidents d'usage. Sørensen, Clark et Lubs ont décrit des mélanges tels que, phosphates acides et phosphates neutres, carbonates, protéines avec leurs produits de décomposition qui font ainsi office de régulateur : ce sont les « substances tampon ».

Nous n'envisagerons que l'emploi d'une gamme de concentration en ions H^+ variant de $P'' 5$ à $P'' 9$. Cette échelle est d'ailleurs la seule employée en bactériologie et c'est celle que nous avons eue à utiliser dans nos expériences.

LES INDICATEURS

Les indicateurs qui nous ont servi sont ceux indiqués par Clarks Lubs et fournis sous la marque R. A. L.

Dibromo orthocrésol sulfone phtaleine	Bromocrésol pourpre	Jaune	5.2
		gris bleu pourpre	6.8
Dibromo thymol sulfone phtaleine	Bromothymol bleu	jaune	6.0
		vert bleu	7.6
Phénol sulfone phtaleine	Rouge de phénol	jaune	6.8
		orangé rouge	8.4
Orthocrésol sulfone phtaleine	Rouge de crésol	jaune	7.2
		orangé rouge	8.8
Thymolsulfone phtaleine (zone alcaline)	Thymol bleu	jaune	8.0
		vert bleu	9.6

Nous avons employé successivement deux méthodes de préparation des solutions colorantes. En premier lieu nous avons dissous 0 gr. 10 de ces indicateurs dans 50 cc d'alcool à 95 °. Pour l'usage on dilue au 1/10^e 5 cc de solution mère avec de l'eau distillée stérilisée ; pour le rouge de phénol, la dilution n'est qu'au 1/5. On emploie V à XX gouttes de ces solutions aqueuses pour 10 cc de liquide à titrer. W. Mansfield Clark recommande de les employer à l'état de sels alcalins. On verse dans un flacon 0 gr. 10 de colorant et on l'arrose avec son équivalent de soude N/20

soit pour le	{	Rouge de phénol ...	5 cc 7
		Rouge de crésol	5 cc 3
		Bromothymol bleu ..	3 cc 2
		Bromocrésol pourpre.	3 cc 7
		Bleu de thymol	4 cc 3

On laisse en contact quelques minutes, puis on complète à 25 cc avec de l'eau bi-distillée et on fait tiédir si besoin est pour compléter la dissolution.

Pour l'usage, ces solutions mères doivent être diluées à :

$1/10 = 0.4 \text{ p. } 1000$	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Bleu de thymol} \\ \text{Bromothymol bleu} \\ \text{Bromothymol pourpre.} \end{array} \right.$
$1/20 = 0.2 \text{ p. } 1000$	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Rouge de phénol} \\ \text{Rouge de crésol.} \end{array} \right.$

Ces dilutions doivent être conservées dans des flacons compte-gouttes en verre neutre ou paraffinés. Le paraffinage des flacons s'obtient facilement en mettant dans des flacons portés au B. M. bouillant un copeau de paraffine. Quand la paraffine est fondue, on roule entre les doigts le flacon et on rejette l'excès de paraffine. Par refroidissement, il se constitue une couche imperméable sur les parois.

Les solutions étalons

Il existe un très grand nombre de solutions étalons mais pour la concentration en ions H sur laquelle nous opérons, la plus employée est le mélange de phosphate de Sorensen qui couvre une zone de P^a allant de 5 à 8,8.

On utilise le phosphate disodique effleuri $P O^4 Na^2 H. 2 H^2 O$. Le phosphate acide choisi est $P O^4 K H^2$, desséché à 100°

On prépare deux solutions mères M/15 en faisant dissoudre dans un litre d'eau bi-distillée chimiquement pure 11 gr. 876 de $P O^4 Na^2 H. 2 H^2 O$ d'une part et 9 gr. 08 de $P O^4 K H^2$ d'autre part. Les sels que nous avons employés étaient garantis purs et spécialement préparés pour cette méthode (R. A. L.).

En mélangeant ces deux solutions suivant les quantités

déterminées on obtient une série de solutions étalons à concentration C^n comme :

M/15 P O ⁴ Na ³ H cc, de solution	M/15 P O ⁴ K H, cc, de solution	C ⁿ exprimée en P ⁿ
97.5	2.5	8.3
95	5	8.0
92	8	7.8
88	12	7.6
82	18	7.4
73	27	7.2
62	38	7.0
50	50	6.8
37	63	6.6
26	74	6.4
18	82	6.2
12	88	6.0
8	92	5.8

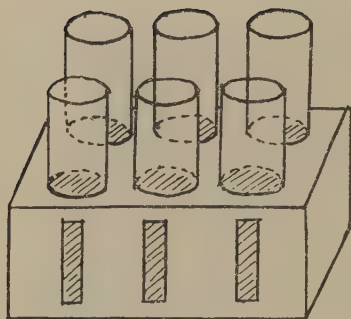
Ce mélange de phosphates forme une solution étalon saline mais on peut préparer des solutions colorées extemporaines. On a constaté qu'une teinte donnée d'un indicateur prise dans la zone sensible de celui-ci, correspondant à une valeur de Pⁿ déterminée, correspond également au mélange en proportions fixes de la forme alcaline de cet indicateur et de sa transformation acide. L'œil perçoit la résultante des colorations. Mais il subit une impression presque superposable si les 2 formes de l'indicateur sont en deux tubes séparés placés l'un derrière l'autre. Le volume du colorant est réparti entre deux séries de tubes d'eau selon un pourcentage déterminé une série est amenée à une réaction nettement acide, l'autre, à une réaction nettement alcaline. Nous ne reproduirons pas le tableau nécessaire à l'application de ce procédé, renvoyant aux travaux de Gillespie, bien expliqués dans l'article de M. Guillaumin (*Journal de Pharmacie et de Chimie*, Mars-Avril 1922).

Technique

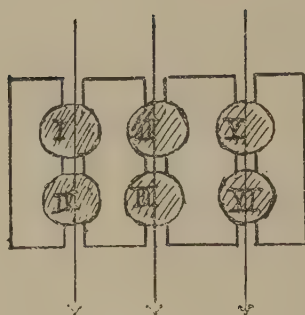
Possédant les indicateurs et une série de liquides étalons, il est facile de déterminer la concentration en ions ²⁵ d'un liquide. Un essai préalable du liquide à examiner peut être fait sur une très petite quantité de liquide en diluant ou en opérant sur des gouttes de liquide comme l'a proposé Felton. La dilution est souvent nécessaire pour les liquides biologiques trop *colorés* et trop riches en protéines. Elle a l'avantage de permettre une comparaison plus nette et de diminuer l'erreur causée par la présence de substances salines ou organiques. Une dilution au 1/5 et même plus forte (1/25 Henderson) est sans inconvénients pour l'exactitude du résultat. L'eau employée pour les solutions ou les dilutions doit être de l'eau bi-distillée, (pour avoir de l'eau distillée très pure et neutre, on peut utiliser le procédé de Tribondeau, au carbonate d'argent), débarrassée de CO_2 par l'ébullition, et conservée dans des vases de verre dur, cédant à l'eau très peu d'alcali.

Le matériel à employer se compose de tubes de verre d'environ 15 mm. de diamètre intérieur présentant autant que possible la même teinte de verre et le même diamètre. Les tubes en verre neutre n'ont un intérêt que pour préparer des étalons colorés stables.

La comparaison des teintes s'effectue dans un appareil appelé comparateur, et dont nous avons fabriqué 2 exemplaires en carton, sur le modèle de celui de Walpole, permettant d'encadrer le tube à essayer, par les 2 tubes étalons dont les teintes sont les plus voisines de la teinte obtenue.



Vue de face



Vue de coupe

BLOC DE WALPOLE

Les tubes I et T contiennent le liquide à examiner sans indication ; le tube II, de l'eau distillée ; le tube III, le liquide à examiner + indicateur ; les tubes IV et VI, les tubes étalons + indicateur.

Pour utiliser le système des colorants extemporanés, le comparateur doit être à 6 trous par série de 3.

En effet, souvent les liquides biologiques ont une teinte propre qui gêne la comparaison avec les tubes étalons. Pour y remédier, on intercale sur le trajet des rayons lumineux passant par le tube étalon, un tube contenant du liquide à essayer sans indicateur. On compense, pour le tube à essayer en plaçant devant lui un tube à essai contenant de l'eau distillée.

Pour déterminer une concentration en ions H, après avoir trouvé la zone approximative du P^a du liquide à essayer, on prend 10 cc. de ce liquide ou 2 cc. de liquide plus 8 cc. d'eau neutre, et on ajoute X gouttes ou 0 cc. 5 de l'indicateur choisi.

Les tubes étalons ont été préparés d'avance à l'aide des deux solutions de phosphates. On fait, dans chaque tube, les mélanges pour 10 cc. suivant les volumes que nous avons donnés plus haut pour chaque solution. On ajoute 0 cc. 5 ou X gouttes de colorant dans chaque tube.

Voici la technique de cet examen comparatif par superposition, telle que l'a décrite Walpole. Dans le comparateur, on dispose les tubes I et V, renfermant le liquide à examiner, sans indicateur, le tube II, contenant de l'eau distillée.

le tube III, le liquide à examiner + V gouttes d'indicateur pour 5 cc. de liquide.

les tubes IV et VI, les tubes étalons + indicateur en même proportion.

Pour l'emploi des solutions extemporanées, nous avons établi un comparateur portant 7 rangées de 2 trous en face l'un de l'autre.

Le faisceau lumineux, dans tous les cas suit le même trajet, et on a un mode d'estimation suffisant, en observant les teintes sur les tubes penchés à 45° au-dessus d'une surface réfléchissant la lumière.

Application de la Méthode

Quand il s'agit d'amener un milieu à une concentration connue en ions, soit à une alcalinité déterminée, on ajoute aux 5 centicubes du tube III, liquide à comparer, de la soude N/20, jusqu'à ce que le tube prenne la teinte du tube étalon de la teneur en ions voulue. Il suffit alors de calculer la quantité soude normale à ajouter pour ramener une quantité connue de ce même milieu à cette même concentration en ions hydrogène.

Pour nos expériences, deux problèmes se posaient : celui de la détermination d'une alcalinité optima et celui de la comparaison des concentrations avant et après glycolyse. Le premier a seul été approfondi, mais nous exposerons aussi ce que nous avons pu retirer de l'étude du *second*.

La concentration optima en ions hydrogène

Pour la glucose « in vitro »

Au début de nos expériences sur l'indice glycolytique, nous avons constaté que, pour une même quantité de glucose introduite dans nos solutions, nous trouvions, après stérilisation à l'autoclave, à 120°, une perte très sensible. Cette perte était d'autant plus accusée que la solution contenait des sels tels que citrates, phosphates. Il est un fait connu qu'il vaut mieux ne pas stériliser à 120° une solution sucrée, car elle devient toujours acide, l'addition antérieure d'un alcalin n'empêche pas cette acidification, mais, au contraire, la favorise. (*Medical Research Committee. Reaction of media*)

Nous touchons ici le phénomène de la glycolyse alcaline qui a été démontré par Slosse. Celui-ci a même reconnu une action favorisante de la soude sur la potasse, mais avec des concentrations en ions bien supérieures à celles employées ici. Nous citerons comme document pour l'interprétation de certaines de nos expériences, les résultats obtenus par Slosse.

A la température de 60° :

Alcalis	Glycolyse	Durée
Na O H N /10	70.28	1 heure
K O H N /10	67.57	1 heure
Na O H N /100	39.5	3 heures
K O H N /100	37.0	3 heures

Avec nos solutions contenant 2 gr. de $P O^4 Na^2 H.2H^2 O$ p. 1.000, nous avons été obligés, pour la stérilisation, de n'employer qu'une température de 105° pendant vingt minutes ; à cette température, nous n'avons pas obtenu une acidité gênante, puisque nous avons P^H 7,5 à P^H 7,8 après refroidissement.

Expérimentation

Pour déterminer le P^H optimum, nous avons pris une série de 7 tubes contenant chacun 2 cc. de solution glucosée et nous y avons ajouté 0 cc centième 3 de sang citraté de lapin ou d'homme.

La concentration en ions de la solution est recherchée à l'aide du comparateur et des tubes étalons, dans ce cas, au rouge de phénol (de P^H 6,8 à P^H 8,3). A l'aide d'une solution de soude N/30 environ introduite goutte à goutte dans la solution, nous faisons varier la teinte de l'indicateur en même temps que l'alcalinité. Par comparaison, nous obtenons la quantité de Na O H N/30 nécessaire pour avoir le P^H désiré. Après addition de la solution alcaline, nous complétons tous les tubes au même volume avec de l'eau distillée stérilisée.

Nous avons pris comme tube témoin, le septième tube où nous avons arrêté la glycolyse par un des moyens que nous avons décrits.

Les tubes ont été laissés 6 heures à l'étuve à 37° et 16 h. à la glacière.

Expérience I

Tubes	P^H	Glycolyse p. 100 (sang de lapin)
1	7.0	29
2	7.4	32
3	7.8	33.5
4	8.2	37.5
5	8.6	27
6	9	25.5

Expérience II

		Sang de lapin
1	7.4	34.5
2	7.8	37.5
3	8.2	40.5

Tubes	P ^H	Glycolyse p. 100 (Sang de lapin)
4	8.6	30
5	9	22
6	9.4	25

Expérience III

		Sang de lapin
1	7.6	17
2	8	29
3	8.4	25
4	8.8	18.5
5	9.2	17.5

Expérience IV

		Sang humain
1	7.6	20
2	8	29
3	8.4	20
4	8.8	17
5	9.2	23
6	9.6	25

Nous avons deux autres expériences de confirmation dont nous n'avons pas rapporté les chiffres.

Nous remarquerons, dans ces quatre expériences, un maximum de glycolyse correspondant à la zone proximale de P^H 8 mais après une baisse sensible dans les expériences N° 2 et N° 4, pour une alcalinité > P^H 9, la glycolyse augmente. Nous avons plus haut parlé de la glycolyse alcaline en donnant des chiffres obtenus par Slosse, pour Na O H N/100. Ici la concentration alcaline est comprise entre N/100.000 et N/10.000 pour un P^H de 9,0 à 10, les variations sont par conséquent faibles. Dans les courbes de glycolyse que nous avons obtenues, avec un double maximum, un vers P^H 8 correspondant, à l'Optimum de l'hémoglycolyse, l'autre pour un

$P^{\#} > 9$, il nous semble que se joignent la glycolyse sanguine et la glycolyse alcaline.

Nous avons essayé, dans quelques unes de nos expériences ci-dessus, quand la sédimentation des globules nous donnait un liquide incolore de rechercher la concentration des ions H après le passage à l'étuve. Nous avons obtenu toujours une acidité plus grande dans le tube où la glycolyse était la plus forte, et cette acidité variait entre $P^{\#} 6.3$ à $P^{\#} 6.8$.

Sachant que dans la glycolyse, l'acide formé est de l'acide lactique, nous avons là un moyen presque titrimétrique de confirmer la disparition du glucose et sa glycolyse vraie.

Nous ne saurions trop insister sur l'importance de vérifier la réaction des milieux d'épreuve. D'elle dépend la sincérité des résultats et aussi la réussite des expériences. Nous en avons eu plusieurs fois la preuve, en ayant vérifié trop tard le $P^{\#}$ de solutions stérilisées à une trop haute température. Les expériences de Starling prouvent jusqu'où ce manque de vérification peut amener.

Dans ces épreuves de glycolyse *in vitro*, où les quantités actives sont faibles, et où tout doit être conjugué pour le meilleur rendement du pouvoir glycolytique, nous voyons le rôle primordial joué par l'alcalinité.

CONCLUSIONS

De tous nos travaux et des considérations auxquelles ils nous ont amené, nous tirerons les conclusions suivantes.

I — Indice Glycolytique

1^o Chez l'homme normal le pouvoir glycolytique du sang, déterminé par l'Indice Glycolytique, varie dans des limites peu importantes.

2^o Dans les états pathologiques, y compris le diabète, mais à l'exception des leucémies myéloïdes, les variations du pouvoir glycolytique sont peu marquées, et on ne peut préciser une loi générale commandant ces variations.

3^o L'hyperleucocytose et la polynucléose, provoquées chez le lapin, constatées chez l'homme dans les états pathologiques, ne semblent pas influencer d'une façon notable et régulière sur le pouvoir glycolytique.

II — Pouvoir glycolytique des organes

1^o En expérimentant, sans antiseptique, sur des quantités d'organes ou de tissus, comparables entre elles, nous avons montré que le pouvoir glycolytique, propriété de la cellule, était variable suivant les organes et les tissus, et qu'on pouvait les classer en trois grandes classes par l'intensité décroissante de la glycolyse : a) Pancréas, Poumon,

Rein, Testicule. *b*) Organes hématopoiétiques. *c*) Cerveau, muscles, sang, suivant nos conditions d'expérience.

2° Le pouvoir glycolytique très accusé du poumon doit attirer l'attention sur l'importance que peut avoir cet organe par ses fonctions internes.

3° Avec les extraits liquides d'organes, nous n'avons pas obtenu des résultats plus concluants qu'avec les organes eux-mêmes. Mais nous avons obtenu par précipitation d'une macération pulmonaire, un précipité doué de pouvoir glycolytique. Nous avons montré qu'en présence de chloroforme la glycolyse avait lieu, avec cependant une intensité moindre.

4° Les poudres d'organes, de rein et de pancréas, en présence d'une solution glucosée, ont un pouvoir glycolytique très net. L'extrait pulmique fournit un apport très grand en matière réductrice.

III — L'arrêt de la glycolyse

Nous avons utilisé indifféremment l'arrêt de la glycolyse par le formol, la coagulation, le bain-marie à 100°, une ébullition rapide ; nos résultats ont toujours été semblables. L'emploi d'une solution très hypotonique pour l'arrêt de l'hémoglycolyse fournit toujours un chiffre légèrement augmenté. En faisant varier la richesse saline, c'est-à-dire la tonicité de nos solutions, nous avons constaté un optimum voisin de l'isotonicité sanguine.

IV — Action des variations du glucose sur le pouvoir glycolytique

Pour l'étude de la glycolyse « *in vitro* » le titre de la solution de glucose est un facteur important qui commande en partie le degré de la glycolyse.

Pour le sang en particulier, les pertes réelles montrent, que dans les conditions d'expérience, la glycolyse n'est pas toujours proportionnelle aux quantités de glucose en présence.

L'étude de la glycolyse p. 100 donne une courbe à maximum correspondant à une concentration optima, environ 3 gr. p. 1.000.

V — Action de la réaction des milieux

Grâce à l'utilisation de la méthode colorimétrique pour la détermination de la concentration en ions Hydrogène, nous avons pu constater que le P^H optimum de l'Hemoglycolyse est dans la zone proximale de P^H 8,0. Pour une réaction alcaline d'un $P^H > 9,0$, il semble que la glycolyse alcaline intervienne à son tour.

Vu, bon à imprimer

Le Président,

D^r CHELLE.

Vu :

Le Doyen,

D^r C. SIGALAS

Vu et permis d'imprimer :

Bordeaux, le 30 Juin, 1922

Le Recteur de l'Académie

R. THAMIN

BIBLIOGRAPHIE

I. — La Glycémie et la Glycolyse. Etudes d'ensemble.

- Ambard et Chabanier.** — *Les Glycémies.* (Bibliographie). Rapport au XV^e Congrès de Médecine. Strasbourg, 1921.
- Baudouin.** — *Les Glycémies.* (Références bibliographiques). Rapport au XV^e Congrès de Médecine. Strasbourg 1921.
- Lambling.** — *Biochimie* 1921.
- R. Lépine.** — *Le Diabète.* 1909 (Références bibliographiques.)
- R. Lépine.** — *Le Sucre du Sang.* 1921. (Références bibliographiques.)
- Randoïn-Faudard** (Mme). — *Sucre libre et Sucre protéidique du Sang.* Th. Fac. Sciences. Paris 1918.

II. — Pouvoir glycolytique du sang et des organes.

- Arronsohn.** — *Contribution à l'étude du ferment glycolytique.* Th. Médecine Paris 1902.
- Ambard.** — *Arrêt de la Glycolyse.* Bul. Soc. Chimie Biol. N° 3 1920.
- Borde.** — *Etude Critique de quelques méthodes pour l'analyse chimique du Sang.* Th. Pharmacie. Bordeaux 1922.
- L. Chelle et P. Mauriac.** — *Du rôle des polynucléaires dans l'autoglycolyse de quelques liquides de l'organisme.* C. R. S. Biologie. LXXVII 1914 p. 110.
- L. Chelle et P. Mauriac.** — *Considérations générales sur la dégradation des hydrates de carbone dans l'organisme.* Journal de Médecine de Bordeaux, 31-5 1914, p. 373.
- L. Chelle et P. Mauriac.** — *Sur la transformation du glucose en acide lactique dans l'hémoglycolyse.* C. R. S. Biologie. 13 juin 1914.
- O. Cohnheim.** — (in Lépine. *Sucre du Sang*, p. 161). Zeitschr. fur Physiol. Chimie T. XXXIX-XVII et XLVII.

- R. Cloque et A. Richaud.** — *Emploi du fluorure ou du citrate de sodium comme agents anticoagulants.* Bul. Soc. Chimie Biol. Mars 1921.
- Duclaux.** — *Traité de Microbiologie* t. II. Le Ferment glycolytique.
- Dopter et Sacquepés.** — *Précis de Bactériologie* 1921.
- W. Denis et Martha Aldrich.** — *Arrêt de la Glycolyse par le formol.* Journal of. Biol. Chemistry. Oct. 1920 p. 203-206.
- Griesbach.** — *Bioch. Zeitschr.* t. I., p. 457.
- K. Kondo.** — (in Lépine. *Sucre du Sang* p. 157). *Bioch. Zeitschr* t. LXX 1912.
- K. Kraske** — (in Lépine. *Sucre du Sang* p. 156). *Bioch. Zeitschr* t. LXX 1912.
- Levene et Meyer.** — (in Lépine. *Sucre du Sang*, p. 114). *Journal of Biol. Chemistry* 1913, t. XIV et XV.
- Loeb.** — (in Lépine. *Sucre du Sang* p. 115). *Bioch. Zeitschr.* t. XLVIII et XLIX.
- Ljundahl.** — *Méthode pour mesurer le pouvoir glycolytique sanguin.* C. R. S. Biol. 1922 t. I p. 498.
- P. Mauriac.** — *Méthode pour mesurer le pouvoir glycolytique sanguin.* C. R. S. Biol. 1921 t. I p. 311.
- P. Mauriac et L. Servantie.** — *Le pouvoir glycolytique du sang mesuré in vitro.* C. R. S. Biol. 1921 T. II, p. 1067
- P. Mauriac et L. Servantie.** — *Le Pouvoir glycolytique comparé des organes* C. R. S. Biol. 1922. T. I, p. 552.
- Rona et Arnheim** — (in Lépine. *Sucre du Sang*, p. 114). *Bioch Zeitschr.* T. XLVIII et XLIX.
- Rona et Doblin** (in Lépine. *Sucre du Sang*, p. 107). *Bioch. Zeitschr.* t. XXXII, p. 489.
- Rona et Vilenko.** — *Bioch. Zeitschr.* t. LIX et LXII.
- Roger et L. Binet.** — *Pouvoir lipopexique et lipodérétique du poumon.* Presse Médicale, 1er Avril 1922.
- Roger.** — *Les Fonctions internes du poumon.* Revue de France. 1er Juin 1922.
- A. Slosse.** — *Arch. internat. Physiol.* 1911 t. XI.
- A. Slosse.** — *Action des Cations sur la Glycolyse alcaline.* C. S. R. Biologie 1921 t. II N° 36.
- A. Slosse.** — *Glycolyse Alcaline.* Soc. Royale des Sc. méd. et nat. de Bruxelles. 1er Mai 1911, p. 104.
- R. Turro.** — *Extraction des Ferments cellulaires.* C. R. S. Biol. 1921. T. I, p. 60-290-375-435.
- A. Youchtchenko.** — *Recherches sur la nucléose.* Arch. des Sc. Biol. Saint-Petersbourg 1912. T. XVII, N° 1.

III. — Détermination colorimétrique de la Concentration en ions H.

Medical Research Committee. Reaction of Media. Special Report
Séries N° 35. 1919. (Bibliographie).

Bruynoghe. — *Manuel de Bactériologie*, 1921.

Ponselle. — *Bull. Inst. Pasteur*, 30 sept. 1920, p. 600.

R. Fabre. — *Etude des méthodes nouvelles employées pour déterminer la réaction des solutions*. *Journal Pharmacie et Chimie* (7) 1922. T. XXV, p. 26-58.

Ch. O. Guillaumin. — *Sur la détermination colorimétrique de la concentration en ions H des liquides biologiques*. (Bibliographie à jour). *Journal Pharmacie et Chimie* (7) 1922 T. XXV, N° 5-6 7.

TABLE DES MATIÈRES

CHAPITRE I

Glycémie et Glycolyse	9
------------------------------------	---

CHAPITRE II

L'Indice Glycolytique	14
Définition	14
Technique de détermination de l'Indice Glycolytique	15
L'Indice Glycolytique à l'état normal	18
L'Indice Glycolytique à l'état pathologique	19
Expérimentation sur le lapin	21
Méthode de M. Ljundalh pour la mesure du pouvoir glycolytique sanguin	23
Conclusions	25

CHAPITRE III

Le pouvoir Glycolytique comparé des Tissus et des Organes, de leurs Extraits et de leurs Poudres	28
Les fonctions internes du poumon	37
Le Pouvoir glycolytique des extraits d'organes	38
Le Pouvoir glycolytique des poudres d'organes	44

CHAPITRE IV

Arrêt de la Glycolyse	48
Action du fluorure de Sodium	48
Influence de la concentration saline	49
Etude comparée des agents antiglycolytiques	51

CHAPITRE V

Action de la concentration en Glucose sur la Glycolyse	53
--	----

Action sur le sang	53
Action sur les organes	56

CHAPITRE VI

Action de la réaction des Milieux	58
Importance de la Réaction des milieux	58
Détermination colorimétrique de la concentration en ions H ...	59
Les Indicateurs	62
Les Solutions Etalons	63
Technique de la méthode	65
Applications expérimentales	69
Conclusions	72
Bibliographie	75
